

日 本 国 特 許 庁
JAPAN PATENT OFFICE

20.03.03

別紙添付の書類に記載されている事項は下記の出願書類に記載されている事項と同一であることを証明する。

This is to certify that the annexed is a true copy of the following application as filed with this Office

出 願 年 月 日

Date of Application:

2002年 6月21日

REC'D 16 MAY 2003

出 願 番 号

Application Number:

特願2002-181580

[ST.10/C]:

[JP2002-181580]

出 願 人

Applicant(s):

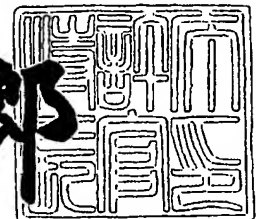
財団法人名古屋産業科学研究所
財団法人岐阜県国際バイオ研究所

PRIORITY DOCUMENT
SUBMITTED OR TRANSMITTED IN
COMPLIANCE WITH
RULE 17.1(a) OR (b)

2003年 5月 2日

特 許 庁 長 官
Commissioner,
Japan Patent Office

太田信一郎



出証番号 出証特2003-3031643

BEST AVAILABLE COPY

【書類名】 特許願

【整理番号】 C02002

【あて先】 特許庁長官 殿

【国際特許分類】 C12N 15/09

【発明者】

【住所又は居所】 愛知県名古屋市緑区ほら貝 2 - 8 2 - 3 グローリアス
緑区ほら貝 7 0 2 号

【氏名】 山田 芳司

【発明者】

【住所又は居所】 愛知県名古屋市緑区神の倉 3 - 9 8

【氏名】 横田 充弘

【特許出願人】

【持分】 003/004

【識別番号】 598091860

【氏名又は名称】 財団法人名古屋産業科学研究所

【特許出願人】

【持分】 001/004

【識別番号】 500572649

【氏名又は名称】 財団法人岐阜県国際バイオ研究所

【代理人】

【識別番号】 100114362

【弁理士】

【氏名又は名称】 萩野 幹治

【手数料の表示】

【予納台帳番号】 102751

【納付金額】 21,000円

【提出物件の目録】

【物件名】 明細書 1

【物件名】 図面 1

【物件名】 要約書 1
【プルーフの要否】 要

【書類名】 明細書

【発明の名称】 心筋梗塞のリスク診断方法

【特許請求の範囲】

【請求項 1】 以下の工程(a)を含んでなる、核酸試料の遺伝子型を検出する方法、

(a) 核酸試料における、以下の(1)～(10)からなるグループより選択される二つ以上の多型を解析する工程、

- (1) コネキシン37遺伝子の塩基番号1019位の多型、
- (2) 腫瘍壊死因子 α 遺伝子の塩基番号-863位の多型、
- (3) NADH/NADPHオキシダーゼp22フォックス遺伝子の塩基番号242位の多型、
- (4) アンギオテンシノーゲン遺伝子の塩基番号-6位の多型、
- (5) アポリポプロテインE遺伝子の塩基番号-219位の多型、
- (6) 血小板活性化因子アセチルヒドロラーゼ遺伝子の塩基番号994位の多型、
- (7) アポリポプロテインC-III遺伝子の塩基番号-482位の多型、
- (8) トロンボスポンジン4遺伝子の塩基番号1186位の多型、
- (9) インターロイキン10遺伝子の塩基番号-819位の多型、及び
- (10) インターロイキン10遺伝子の塩基番号-592位の多型。

【請求項 2】 以下の工程(b)を含んでなる、核酸試料の遺伝子型を検出する方法、

(b) 核酸試料における、以下の(11)～(15)からなるグループより選択される二つ以上の多型を解析する工程、

- (11) ストロメライシン1遺伝子の塩基番号-1171位の多型、
- (12) プラスミノーゲン活性化因子インヒビター1遺伝子の塩基番号-668位の多型、
- (13) グリコプロテインIb α 遺伝子の塩基番号1018位の多型、
- (14) パラオキシナーゼ遺伝子の塩基番号584位の多型、及び
- (15) アポリポプロテインE遺伝子の塩基番号4070位の多型。

【請求項 3】 以下の工程(c)を含んでなる、核酸試料の遺伝子型を検出する方法、

(c) 核酸試料における、アポリポプロテインE遺伝子の塩基番号4070位の多型を解析する工程。

【請求項4】 以下の工程(i)～(iii)を含んでなる、心筋梗塞のリスク診断方法、

(i)核酸試料における、以下の(1)～(10)からなるグループより選択される二つ以上の多型を解析する工程、

- (1)コネキシン37遺伝子の塩基番号1019位の多型、
- (2)腫瘍壊死因子 α 遺伝子の塩基番号-863位の多型、
- (3)NADH/NADPHオキシダーゼp22フォックス遺伝子の塩基番号242位の多型、
- (4)アンギオテンシノーゲン遺伝子の塩基番号-6位の多型、
- (5)アポリポプロテインE遺伝子の塩基番号-219位の多型、
- (6)血小板活性化因子アセチルヒドロラーゼ遺伝子の塩基番号994位の多型、
- (7)アポリポプロテインC-III遺伝子の塩基番号-482位の多型、
- (8)トロンボスポンジン4遺伝子の塩基番号1186位の多型、
- (9)インターロイキン10遺伝子の塩基番号-819位の多型、及び
- (10)インターロイキン10遺伝子の塩基番号-592位の多型、

(ii)前記工程によって得られる多型情報から核酸試料の遺伝子型を決定する工程、及び

(iii)決定された遺伝子型から心筋梗塞の遺伝的リスクを求める工程。

【請求項5】 以下の工程(iv)～(vi)を含んでなる、心筋梗塞のリスク診断方法、

(iv)核酸試料における、以下の(11)～(15)からなるグループより選択される二つ以上の多型を解析する工程、

- (11)ストロメライン1遺伝子の塩基番号-1171位の多型、
- (12)プラスミノーゲン活性化因子インヒビター1遺伝子の塩基番号-668位の多型、
- (13)グリコプロテインIb α 遺伝子の塩基番号1018位の多型、
- (14)パラオキシナーゼ遺伝子の塩基番号584位の多型、及び
- (15)アポリポプロテインE遺伝子の塩基番号4070位の多型、

(v)前記工程によって得られる多型情報から核酸試料の遺伝子型を決定する工程、及び

(vi)決定された遺伝子型から心筋梗塞の遺伝的リスクを求める工程。

【請求項6】 以下の工程(vii)～(ix)を含んでなる、心筋梗塞のリスク診断方法、

(vii)核酸試料における、アポリポプロテインE遺伝子の塩基番号4070位の多型を解析する工程、

(viii)前記工程によって得られる多型情報から核酸試料の遺伝子型を決定する工程、及び

(ix)決定された遺伝子型から心筋梗塞の遺伝的リスクを求める工程。

【請求項7】 以下の(1)～(10)からなるグループより選択される二つ以上の核酸を含んでなる遺伝子型検出用キット、

(1)コネキシン37遺伝子の塩基番号1019位の多型を解析するための核酸、

(2)腫瘍壊死因子 α 遺伝子の塩基番号-863位の多型を解析するための核酸、

(3)NADH/NADPHオキシダーゼp22フォックス遺伝子の塩基番号242位の多型を解析するための核酸、

(4)アンギオテンシノーゲン遺伝子の塩基番号-6位の多型を解析するための核酸、

(5)アポリポプロテインE遺伝子の塩基番号-219位の多型を解析するための核酸

(6)血小板活性化因子アセチルヒドロラーゼ遺伝子の塩基番号994位の多型を解析するための核酸、

(7)アポリポプロテインC-III遺伝子の塩基番号-482位の多型を解析するための核酸、

(8)トロンボスポンジン4遺伝子の塩基番号1186位の多型を解析するための核酸

(9)インターロイキン10遺伝子の塩基番号-819位の多型を解析するための核酸、及び

(10)インターロイキン10遺伝子の塩基番号-592位の多型を解析するための核酸

【請求項 8】 以下の(11)～(15)からなるグループより選択される二つ以上の核酸を含んでなる遺伝子型検出用キット、

(11)ストロメラシン1遺伝子の塩基番号-1171位の多型を解析するための核酸

(12)プラスミノゲン活性化因子インヒビター1遺伝子の塩基番号-668位の多型を解析するための核酸、

(13)グリコプロテインIb α 遺伝子の塩基番号1018位の多型を解析するための核酸、

(14)パラオキシナーゼ遺伝子の塩基番号584位の多型を解析するための核酸、及び

(15)アポリポプロテインE遺伝子の塩基番号4070位の多型を解析するための核酸。

【請求項 9】 アポリポプロテインE遺伝子の塩基番号4070位の多型を解析するための核酸、を含んでなる遺伝子型検出用キット。

【請求項 10】 以下の(1)～(10)からなるグループより選択される二つ以上の核酸が不溶性支持体に固定されてなる固定化核酸、

(1)コネキシン37遺伝子の塩基番号1019位の多型を解析するための核酸、

(2)腫瘍壊死因子 α 遺伝子の塩基番号-863位の多型を解析するための核酸、

(3)NADH/NADPHオキシダーゼp22フォックス遺伝子の塩基番号242位の多型を解析するための核酸、

(4)アンギオテンシノーゲン遺伝子の塩基番号-6位の多型を解析するための核酸、

(5)アポリポプロテインE遺伝子の塩基番号-219位の多型を解析するための核酸

(6)血小板活性化因子アセチルヒドロラーゼ遺伝子の塩基番号994位の多型を解析するための核酸、

(7)アポリポプロテインC-III遺伝子の塩基番号-482位の多型を解析するための核酸、

(8) トロンボスポンジン4遺伝子の塩基番号1186位の多型を解析するための核酸

(9) インターロイキン10遺伝子の塩基番号-819位の多型を解析するための核酸

、及び

(10) インターロイキン10遺伝子の塩基番号-592位の多型を解析するための核酸

【請求項 1 1】 以下の(11)～(15)からなるグループより選択される二つ以上の核酸が不溶性支持体に固定されてなる固定化核酸、

(11) ストロメライン1遺伝子の塩基番号-1171位の多型を解析するための核酸

(12) プラスミノーゲン活性化因子インヒビター1遺伝子の塩基番号-668位の多型を解析するための核酸、

(13) グリコプロテインIb α 遺伝子の塩基番号1018位の多型を解析するための核酸、

(14) パラオキシナーゼ遺伝子の塩基番号584位の多型を解析するための核酸、及び

(15) アポリポプロテインE遺伝子の塩基番号4070位の多型を解析するための核酸。

【請求項 1 2】 アポリポプロテインE遺伝子の塩基番号4070位の多型を解析するための核酸が不溶性支持体に固定されてなる固定化核酸。

【発明の詳細な説明】

【0 0 0 1】

【産業上の利用分野】

本発明は心筋梗塞に関連する遺伝子を利用した検出方法に関する。詳しくは、心筋梗塞に関連する複数の遺伝子の多型を利用した検出方法及び該方法に用いられるキットに関する。本発明は、例えば心筋梗塞のリスク診断に利用できる。

【0 0 0 2】

【従来の技術】

心筋梗塞は多因子疾患であり、個人個人の遺伝的背景とさまざまな環境因子の

相互作用により発症が規定される (Marenberg ME, Risch N, Berkman LF, Floderus B, de Faire U. Genetic susceptibility to death from coronary heart disease in a study of twins. *N Engl J Med* 1994;330:1041-1046., Nora JJ, Lortscher RH, Spangler RD, Nora AH, Kimberling WJ. Genetic-epidemiologic study of early-onset ischemic heart disease. *Circulation* 1980;61:503-508.)。一般的に心筋梗塞の発症率は高血圧・糖尿病・高脂血症などの従来の危険因子の数に比例して高くなる (Nora JJ, Lortscher RH, Spangler RD, Nora AH, Kimberling WJ. Genetic-epidemiologic study of early-onset ischemic heart disease. *Circulation* 1980;61:503-508.)。これらの危険因子自体も一部は遺伝的要因により制御されているが、家族歴が独立した心筋梗塞の予知因子であることから、従来の危険因子以外にも心筋梗塞感受性因子が存在することが示唆されている (Marenberg ME, Risch N, Berkman LF, Floderus B, de Faire U. Genetic susceptibility to death from coronary heart disease in a study of twins. *N Engl J Med* 1994;330:1041-1046.)。さらに、従来の危険因子を全く持たなくても心筋梗塞を発症する例があることも、遺伝因子との関連を示唆する。

【 0 0 0 3 】

心筋梗塞は欧米諸国において最も死亡率の高い疾患であり、たとえ致死的ではないにしても、心不全や狭心症・難治性不整脈を合併し患者の生活の質を著しく低下させるため、これを予防することが重要であることは言うまでもない。心筋梗塞を予防するための一つの方法は心筋梗塞感受性遺伝子を同定することである。連鎖解析 (Broeckel U, Hengstenberg C, Mayer B, et al. A comprehensive linkage analysis for myocardial infarction and its related risk factors. *Nature genet* 2002;30:210-214.) および候補遺伝子による関連解析 (Cambien F, Poirier O, Lecerf L, et al. Deletion polymorphism in the gene for angiotensin-converting enzyme is a potent risk factor for myocardial infarction. *Nature* 1992;359:641-644., Weiss EJ, Bray PF, Tayback M, et al. A polymorphism of a platelet glycoprotein receptor as an inherited risk factor for coronary thrombosis. *N Engl J Med* 1996;334:1090-1094., Iacoviell

o L, Di Castelnuovo A, De Knijff P, et al. Polymorphisms in the coagulation factor VII gene and the risk of myocardial infarction. N Engl J Med 1998;338:79-85.、Kuivenhoven JA, Jukema JW, Zwiderman AH, et al. The role of a common variant of the cholesterol ester transfer protein gene in the progression of coronary atherosclerosis. N Engl J Med 1998;338:86-93.) により、心筋梗塞と関連する染色体上の遺伝子座およびいくつかの候補遺伝子群が同定された。今までにゲノム疫学的研究によりアンギオテンシン変換酵素 (Cambien F, Poirier O, Lecerf L, et al. Deletion polymorphism in the gene for angiotensin-converting enzyme is a potent risk factor for myocardial infarction. Nature 1992;359:641-644.)、血小板糖タンパク IIIa (Weiss EJ, Bray PF, Tayback M, et al. A polymorphism of a platelet glycoprotein receptor as an inherited risk factor for coronary thrombosis. N Engl J Med 1996;334:1090-1094.)、第7血液凝固因子、コレステロールエステル移送タンパク (Kuivenhoven JA, Jukema JW, Zwiderman AH, et al. The role of a common variant of the cholesterol ester transfer protein gene in the progression of coronary atherosclerosis. N Engl J Med 1998;338:86-93.) など の遺伝子多型と心筋梗塞との関連が報告されているが、相反する報告もあり、未だ一定の結論を得るに至っていない。さらに、異なる人種では異なるゲノム多型を有するため、それぞれの人種で多型と心筋梗塞との関連についてのデータベースを構築することが重要である。

【0004】

【発明が解決しようとする課題】

以上のように、今までに数多くの遺伝子多型と冠動脈疾患あるいは心筋梗塞との関連解析が行われてきた。しかし多くの研究についてはその意義について一定の見解は得られていない。その主な理由は多くの研究における対象集団の大きさが十分でないことと、遺伝子多型のみならず環境因子が人種間で異なっていることに起因する。さらに、たとえ心筋梗塞との関連が認められたとしても、大規模集団における解析では相対危険度（オッズ比）が低いのが一般的である。

本発明は以上の背景に鑑みなされたものであって、その目的は高精度で予知確

率の高い心筋梗塞の遺伝的リスクを診断する手段を提供し、心筋梗塞の一次予防に貢献することである。

【0005】

【課題を解決するための手段】

本発明者らは、以上の目的を達成するために数種類の公的データベースを用いて、冠動脈硬化、冠動脈攣縮、高血圧、糖尿病、高脂血症などとの関連が推定される71遺伝子を抜粋し、遺伝子の機能変化との関連が予想されるものなどを中心に112多型を選択した。続いて、この71遺伝子112多型に関して5000例を越える大規模関連解析を行った。その結果、心筋梗塞と関連するSNP (single nucleotide polymorphism) を男性で10個、女性で5個同定することに成功した。更に、これらの多型を組み合わせる用いることにより、多因子ロジスティック回帰分析のstepwise forward selectionにより男性では最大オッズ比11.26、女性では最大オッズ比88.51を呈することが認められた。この結果から、これらのSNPの中から複数のSNPを選択し、各SNPを解析した結果を組み合わせる用いれば、信頼性が高く、予知確率の高い心筋梗塞のリスク診断が行えるとの知見が得られた。一方で、女性において心筋梗塞との関連が認められた5個のSNPの中の一つについては、その多型を単独で解析することによっても極めて高いオッズ比が得られるものであった。本発明は以上の知見に基づくものであって、次の構成を提供する。

[1] 以下の工程(a)を含んでなる、核酸試料の遺伝子型を検出する方法、

(a) 核酸試料における、以下の(1)～(10)からなるグループより選択される二つ以上の多型を解析する工程、

- (1) コネキシン37遺伝子の塩基番号1019位の多型、
- (2) 腫瘍壊死因子 α 遺伝子の塩基番号-863位の多型、
- (3) NADH/NADPHオキシダーゼp22フォックス遺伝子の塩基番号242位の多型、
- (4) アンギオテンシノーゲン遺伝子の塩基番号-6位の多型、
- (5) アポリポプロテインE遺伝子の塩基番号-219位の多型、
- (6) 血小板活性化因子アセチルヒドロラーゼ遺伝子の塩基番号994位の多型、
- (7) アポリポプロテインC-III遺伝子の塩基番号-482位の多型、
- (8) トロンボスポンジン4遺伝子の塩基番号1186位の多型、

(9) インターロイキン10遺伝子の塩基番号-819位の多型、及び

(10) インターロイキン10遺伝子の塩基番号-592位の多型。

[2] 以下の工程(b)を含んでなる、核酸試料の遺伝子型を検出する方法、

(b) 核酸試料における、以下の(11)～(15)からなるグループより選択される二つ以上の多型を解析する工程、

(11) ストロメライン1遺伝子の塩基番号-1171位の多型、

(12) プラスミノゲン活性化因子インヒビター1遺伝子の塩基番号-668位の多型、

(13) グリコプロテインIb α 遺伝子の塩基番号1018位の多型、

(14) パラオキシナーゼ遺伝子の塩基番号584位の多型、及び

(15) アポリポプロテインE遺伝子の塩基番号4070位の多型。

[3] 以下の工程(c)を含んでなる、核酸試料の遺伝子型を検出する方法、

(c) 核酸試料における、アポリポプロテインE遺伝子の塩基番号4070位の多型を解析する工程。

[4] 以下の工程(i)～(iii)を含んでなる、心筋梗塞のリスク診断方法、

(i) 核酸試料における、以下の(1)～(10)からなるグループより選択される二つ以上の多型を解析する工程、

(1) コネキシン37遺伝子の塩基番号1019位の多型、

(2) 腫瘍壊死因子 α 遺伝子の塩基番号-863位の多型、

(3) NADH/NADPHオキシダーゼp22フォックス遺伝子の塩基番号242位の多型、

(4) アンギオテンシノーゲン遺伝子の塩基番号-6位の多型、

(5) アポリポプロテインE遺伝子の塩基番号-219位の多型、

(6) 血小板活性化因子アセチルヒドロラーゼ遺伝子の塩基番号994位の多型、

(7) アポリポプロテインC-III遺伝子の塩基番号-482位の多型、

(8) トロンボスポンジン4遺伝子の塩基番号1186位の多型、

(9) インターロイキン10遺伝子の塩基番号-819位の多型、及び

(10) インターロイキン10遺伝子の塩基番号-592位の多型、

(ii) 前記工程によって得られる多型情報から核酸試料の遺伝子型を決定する工程、及び

(iii)決定された遺伝子型から心筋梗塞の遺伝的リスクを求める工程。

[5] 以下の工程(iv)~(vi)を含んでなる、心筋梗塞のリスク診断方法、

(iv)核酸試料における、以下の(11)~(15)からなるグループより選択される二つ以上の多型を解析する工程、

(11)ストロメラシン1遺伝子の塩基番号-1171位の多型、

(12)プラスミノゲン活性化因子インヒビター1遺伝子の塩基番号-668位の多型、

(13)グリコプロテインIb α 遺伝子の塩基番号1018位の多型、

(14)パラオキシナーゼ遺伝子の塩基番号584位の多型、及び

(15)アポリポプロテインE遺伝子の塩基番号4070位の多型、

(v)前記工程によって得られる多型情報から核酸試料の遺伝子型を決定する工程、及び

(vi)決定された遺伝子型から心筋梗塞の遺伝的リスクを求める工程。

[6] 以下の工程(vii)~(ix)を含んでなる、心筋梗塞のリスク診断方法、

(vii)核酸試料における、アポリポプロテインE遺伝子の塩基番号4070位の多型を解析する工程、

(viii)前記工程によって得られる多型情報から核酸試料の遺伝子型を決定する工程、及び

(ix)決定された遺伝子型から心筋梗塞の遺伝的リスクを求める工程。

[7] 以下の(1)~(10)からなるグループより選択される二つ以上の核酸を含んでなる遺伝子型検出用キット、

(1)コネキシン37遺伝子の塩基番号1019位の多型を解析するための核酸、

(2)腫瘍壊死因子 α 遺伝子の塩基番号-863位の多型を解析するための核酸、

(3)NADH/NADPHオキシダーゼp22フォックス遺伝子の塩基番号242位の多型を解析するための核酸、

(4)アンギオテンシノーゲン遺伝子の塩基番号-6位の多型を解析するための核酸、

(5)アポリポプロテインE遺伝子の塩基番号-219位の多型を解析するための核酸

(6) 血小板活性化因子アセチルヒドロラーゼ遺伝子の塩基番号994位の多型を解析するための核酸、

(7) アポリポプロテインC-III遺伝子の塩基番号-482位の多型を解析するための核酸、

(8) トロンボスポンジン4遺伝子の塩基番号1186位の多型を解析するための核酸、

(9) インターロイキン10遺伝子の塩基番号-819位の多型を解析するための核酸、及び

(10) インターロイキン10遺伝子の塩基番号-592位の多型を解析するための核酸。

[8] 以下の(11)～(15)からなるグループより選択される二つ以上の核酸を含んでなる遺伝子型検出用キット、

(11) ストロメライン1遺伝子の塩基番号-1171位の多型を解析するための核酸、

(12) プラスミノーゲン活性化因子インヒビター1遺伝子の塩基番号-668位の多型を解析するための核酸、

(13) グリコプロテインIb α 遺伝子の塩基番号1018位の多型を解析するための核酸、

(14) パラオキシナーゼ遺伝子の塩基番号584位の多型を解析するための核酸、及び

(15) アポリポプロテインE遺伝子の塩基番号4070位の多型を解析するための核酸。

[9] アポリポプロテインE遺伝子の塩基番号4070位の多型を解析するための核酸、を含んでなる遺伝子型検出用キット。

[10] 以下の(1)～(10)からなるグループより選択される二つ以上の核酸が不溶性支持体に固定されてなる固定化核酸、

(1) コネキシン37遺伝子の塩基番号1019位の多型を解析するための核酸、

(2) 腫瘍壊死因子 α 遺伝子の塩基番号-863位の多型を解析するための核酸、

(3) NADH/NADPHオキシダーゼp22フォックス遺伝子の塩基番号242位の多型を解

析するための核酸、

(4) アンギオテンシノーゲン遺伝子の塩基番号-6位の多型を解析するための核酸、

(5) アポリポプロテインE遺伝子の塩基番号-219位の多型を解析するための核酸

(6) 血小板活性化因子アセチルヒドロラーゼ遺伝子の塩基番号994位の多型を解析するための核酸、

(7) アポリポプロテインC-III遺伝子の塩基番号-482位の多型を解析するための核酸、

(8) トロンボスポンジン4遺伝子の塩基番号1186位の多型を解析するための核酸

(9) インターロイキン10遺伝子の塩基番号-819位の多型を解析するための核酸、及び

(10) インターロイキン10遺伝子の塩基番号-592位の多型を解析するための核酸

[11] 以下の(11)～(15)からなるグループより選択される二つ以上の核酸が不溶性支持体に固定されてなる固定化核酸、

(11) ストロメライン1遺伝子の塩基番号-1171位の多型を解析するための核酸

(12) プラスミノゲン活性化因子インヒビター1遺伝子の塩基番号-668位の多型を解析するための核酸、

(13) グリコプロテインIb α 遺伝子の塩基番号1018位の多型を解析するための核酸、

(14) パラオキシナーゼ遺伝子の塩基番号584位の多型を解析するための核酸、及び

(15) アポリポプロテインE遺伝子の塩基番号4070位の多型を解析するための核酸。

[12] アポリポプロテインE遺伝子の塩基番号4070位の多型を解析するための核酸が不溶性支持体に固定されてなる固定化核酸。

【0006】

【発明の実施の形態】

本発明の第1の局面は核酸試料の遺伝子型を検出する方法に関し、その一態様は以下の(1)～(10)からなるグループより選択される二つ以上の多型を解析する工程を含むことを特徴とする。また他の態様としては、以下の(11)～(15)からなるグループより選択される二つ以上の多型を解析する工程を含むことを特徴とする。さらに他の態様としては、以下の(15)の多型を解析する工程を少なくとも含むことを特徴とする。尚、以上の工程の結果得られる多型情報から核酸試料の遺伝子型を決定することにより心筋梗塞の遺伝的リスクを求めることができる。

(1)コネキシン37 (Connexin 37) 遺伝子の塩基番号1019位の多型：1019C→T（以下、「コネキシン37(1019C→T)多型」ともいう）

(2)腫瘍壊死因子 α 遺伝子 (Tumor necrosis factor- α) の塩基番号-863位の多型：-863C→A（以下、「TNF α (-863C→A)多型」ともいう）

(3)NADH/NADPHオキシダーゼp22フォックス (NADH/NADPH oxidase p22 phox) 遺伝子の塩基番号242位の多型：242C→T（以下、「NADH/NADPHオキシダーゼp22フォックス(242C→T)多型」ともいう）、

(4)アンギオテンシノーゲン (Angiotensinogen) 遺伝子の塩基番号-6位の多型：-6G→A（以下、「アンギオテンシノーゲン(-6G→A)多型」ともいう）

(5)アポリポプロテインE (Apolipoprotein E) 遺伝子の塩基番号-219位の多型：-219G→T（以下、「アポE-219(-219G→T)多型」ともいう）

(6)血小板活性化因子アセチルヒドロラーゼ (Platelet-activating factor acetylhydrolase) 遺伝子の塩基番号994位の多型：994G→T（以下、「PAFアセチルヒドロラーゼ(994G→T)多型」ともいう）

(7)アポリポプロテインC-III (Apolipoprotein C-III) 遺伝子の塩基番号-482位の多型：-482C→T（以下、「アポC-III(-482C→T)多型」ともいう）

(8)トロンボスポンジン4 (Thrombospondin 4) 遺伝子の塩基番号1186位の多型：1186G→C（以下、「TSP4(1186G→C)多型」ともいう）

(9)インターロイキン10 (Interleukin-10) 遺伝子の塩基番号-819位の多型：-819T→C（以下、「IL-10(-819T→C)多型」ともいう）

(10) インターロイキン10 (Interleukin-10) 遺伝子の塩基番号-592位の多型：
-592A→C (以下、「IL-10(-592A→C)多型」ともいう)

(11) ストロメラysin1 (Stromelysin-1) 遺伝子の塩基番号-1171位の多型：
-1171/5A→6A (以下、「ストロメラysin1(-1171/5A→6A)多型」ともいう)

(12) プラスミノゲン活性化因子インヒビター1 (Plasminogen activator inhibitor-1) 遺伝子の塩基番号-668位の多型：
-668/4G→5G (以下、「PAI1(-668/4G→5G)多型」ともいう)

(13) グリコプロテインIb α (Glycoprotein Ib α) 遺伝子の塩基番号1018位の多型：
1018C→T (以下、「グリコプロテインIb α (1018C→T)多型」ともいう)

(14) パラオキシナーゼ (Paraoxonase) 遺伝子の塩基番号584位の多型：
584G→A (以下、「パラオキシナーゼ (584G→A)多型」ともいう)

(15) アポリポプロテインE (Apolipoprotein E) 遺伝子の塩基番号4070位の多型：
4070C→T (以下、「アポE (4070C→T)多型」ともいう)

【 0 0 0 7 】

以上において1019C→Tのような表記は、当該塩基番号位置の多型が矢印の前又は後の塩基である二つの遺伝子型からなることを意味する。但し、-1171/5A→6Aは塩基番号-1171位から3'方向にA(アデニン)が連続して5個存在する遺伝子型と6個存在する遺伝子型からなる多型を意味する。同様に、-668/4G→5Gは塩基番号-668位から3'方向にG(グアニン)が連続して4個存在する遺伝子型と5個存在する遺伝子型からなる多型を意味する。

【 0 0 0 8 】

各遺伝子における塩基番号は公共のデータベースであるGenBank (NCBI) に登録されている公知の配列を基準として表される。尚、配列番号1の塩基配列 (Accession No. M96789: Homo sapiens connexin 37 (GJA4) mRNA, complete cds) において1019番目の塩基がコネキシン37遺伝子の1019位塩基に相当する。同様に配列番号2の塩基配列 (Accession No. L11698: Homo sapiens tumor necrosis factor alpha gene, promoter region) において197番目の塩基が腫瘍壊死因子 α 遺伝子の-863位塩基に相当し、配列番号3の塩基配列 (Accession No. M61107: Homo sapiens cytochrome b light chain (CYBA) gene, exons 3 and 4) におい

て684番目の塩基がNADH/NADPHオキシダーゼp22フォックス遺伝子の242位塩基に相当し、配列番号4の塩基配列 (Accession No. X15323: H.sapiens angiotensinogen gene 5' region and exon 1) において463番目の塩基がアンギオテンシノーゲン遺伝子の-6位塩基に相当し、配列番号5の塩基配列 (Accession No. AF055343: Homo sapiens apolipoprotein E (APOE) gene, 5' regulatory region, partial sequence) において801番目の塩基がアポリポプロテインE遺伝子の-219位塩基に相当し、配列番号6の塩基配列 (Accession No. U20157: Human platelet-activating factor acetylhydrolase mRNA, complete cds) において996番目の塩基が血小板活性化因子アセチルヒドロラーゼ遺伝子の994位塩基に相当し、配列番号7の塩基配列 (Accession No. X13367: Human DNA for apolipoprotein C-III 5'-flank) において936番目の塩基がアポリポプロテインC-III遺伝子の-482位塩基に相当し、配列番号8の塩基配列 (Accession No. Z19585: H.sapiens mRNA for thrombospondin-4) において1186番目の塩基がトロンボスポンジン4遺伝子の1186位塩基に相当し、配列番号9の塩基配列 (Accession No. Z30175: H.sapiens IL-10 gene for interleukin 10 (promoter)) において455番目の塩基がインターロイキン10遺伝子の-819位塩基に、682番目の塩基が-592位塩基にそれぞれ相当し、配列番号10の塩基配列 (Accession No. U43511: Homo sapiens stromelysin-1 gene, promoter region) において698番目の塩基がストロメライン1遺伝子の-1171位塩基に相当し、配列番号11の塩基配列 (Accession No. X13323: Human gene for plasminogen activator inhibitor 1 (PAI-1) 5'-flank and exon 1) において131番目の塩基がプラスミノーゲン活性化因子インヒビター1遺伝子の-668位塩基に相当し、配列番号12の塩基配列 (Accession No. J02940: Human platelet glycoprotein Ib alpha chain mRNA, complete cds) において524番目の塩基がグリコプロテインIb α 遺伝子の1018位塩基に相当し、配列番号13の塩基配列 (Accession No. M63012: H.sapiens serum paraoxonase (PON) mRNA, complete cds) において584番目の塩基がパラオキシナーゼ遺伝子の584位塩基に相当し、配列番号14の塩基配列 (Accession No. M10065: Human apolipoprotein E (epsilon-4 allele) gene, complete cds) において4070番目の塩基がアポリポプロテインE遺伝子の4070位塩基に相当する。

【0009】

本発明において「多型を解析する」とは、解析対象の遺伝子多型について核酸試料がどのような遺伝子型を有するかを調べることを意味し、多型が存在する位置の塩基（塩基配列）を調べることと同義である。典型的には、コネキシン37(1019C→T)多型の解析を例に採れば、核酸試料におけるコネキシン37の遺伝子型がTT（1019位塩基が両アレル共にTのホモ接合体）、CT（1019位塩基がCのアレルとTのアレルとのヘテロ接合体）、及びCC（1019位塩基が両アレル共にCのホモ接合体）の中のいずれであることを調べることを意味する。

【0010】

上記の(1)～(10)の多型は、後述の実施例で示されるように、日本人男性を対象とした解析において心筋梗塞の遺伝的リスクの判定に利用することが特に有効と認められた多型である。従って、これらの多型を解析対象とすることは、男性、特に日本人男性を被験者とするときにより高精度で予知確率の高い診断を可能とする。

【0011】

同様に(11)～(15)の多型は、後述の実施例で示されるように、日本人女性を対象とした解析において心筋梗塞の遺伝的リスクの判定に利用することが有効と認められた多型である。従って、これらの多型を解析対象とすることは、女性、特に日本人女性を被験者とするときにより高精度で予知確率の高い診断を可能とする。これらの多型の中でも(15)の多型については、後述の実施例で示されるように、それを解析することにより極めて高いオッズ比で心筋梗塞の遺伝的リスクを判別できることが確認された。従って、この多型を単独で解析することによっても高精度かつ予知確率の高い心筋梗塞の遺伝的リスクを判定することが可能である。勿論、この(15)の多型の解析に加えて、(11)～(14)から選択されるいずれか又は複数の多型の解析を組み合わせ実施し、遺伝子型の検出或は心筋梗塞の遺伝的リスクの診断を行うこともできる。

【0012】

ここで、原則的には解析する多型の数の増加に比例して核酸試料の遺伝子型がより細かく分類され、これによって一層予知確率の高い心筋梗塞の遺伝的リスク

の診断を行うことができる。かかる見地から、上記の(1)～(10)の多型の中でより多くの多型を解析して遺伝子型を検出することが好ましい。従って、(1)～(10)のすべての多型を解析することが最も好ましい。九つ以下の多型を組み合わせで遺伝子型の検出を行う場合には、後述の実施例で示されるオッズ比の高い多型を優先的に選択して用いることが好ましい。例えば八つの多型を組み合わせで用いるのであれば、オッズ比の高い順から九つ、即ち(1)、(3)、(5)、(6)、(7)、(8)、(9)及び(10)を選択することが好ましい。同様に、例えば七つの多型を組み合わせで用いるのであれば(1)、(3)、(5)、(6)、(8)、(9)及び(10)を選択することが好ましい。同様に、例えば六つの多型を組み合わせで用いるのであれば(1)、(5)、(6)、(8)、(9)及び(10)を選択することが好ましい。同様に、例えば五つの多型を組み合わせで用いるのであれば(1)、(5)、(6)、(8)及び(9)を選択することが好ましい。

【0013】

(11)～(15)の多型から選択される二つ以上の多型を解析する場合も同様に、これらすべての多型、即ち五つの多型を解析することが最も好ましい。四つ以下の多型を組み合わせで遺伝子型の検出を行う場合には、後述の実施例で示されるオッズ比の高い多型を優先的に選択して用いることが好ましい。例えば四つの多型を組み合わせで用いるのであれば、オッズ比の高い順から四つ、即ち(11)、(12)、(14)、及び(15)を選択することが好ましい。同様に、例えば三つの多型を組み合わせで用いるのであれば(11)、(12)、及び(15)を選択することが好ましい。同様に、例えば二つの多型を組み合わせで用いるのであれば(11)及び(15)を選択することが好ましい。

【0014】

各遺伝子多型を解析する方法は特に限定されるものではなく、例えばアリル特異的プライマー（及びプローブ）を用い、PCR法による増幅、及び増幅産物の多型を蛍光又は発光によって解析する方法や、PCR(polymerase chain reaction)法を利用したPCR-RFLP(restriction fragment length polymorphism: 制限酵素断片長多型)法、PCR-SSCP(single strand conformation polymorphism: 単鎖高次構造多型)法(Orita, M. et al., Proc. Natl. Acad. Sci., U.S.A., 86, 2766-27

70(1989)等)、PCR-SSO(specific sequence oligonucleotide: 特異的配列オリゴヌクレオチド)法、PCR-SSO法とドットハイブリダイゼーション法を組み合わせたASO(allele specific oligonucleotide: アレル特異的オリゴヌクレオチド)ハイブリダイゼーション法(Saiki, Nature, 324, 163-166(1986)等)、又はTaqMan-PCR法(Livak, KJ, Genet Anal, 14, 143(1999), Morris, T. et al., J. Clin. Microbiol., 34, 2933(1996)), Invader法(Lyamichev V et al., Nat Biotechnol, 17, 292(1999)), プライマー伸長法を用いたMALDI-TOF/MS(matrix)法(Haff LA, Smirnov IP, Genome Res 7, 378(1997)), RCA(rolling cycle amplification)法(Lizardi PM et al., Nat Genet 19, 225(1998)), DNAチップ又はマイクロアレイを用いた方法(Wang DG et al., Science 280, 1077(1998)等)、プライマー伸長法、サザンブロットハイブリダイゼーション法、ドットハイブリダイゼーション法(Southern, E., J. Mol. Biol. 98, 503-517(1975))等、公知の方法を採用できる。さらに、解析対象の多型部分を直接シーケンスすることにより解析してもよい。尚、これらの方法を任意に組み合わせて多型解析を行ってもよい。

【 0 0 1 5 】

核酸試料が少量の場合には、検出感度ないし精度の面からPCR法を利用した方法(例えば、PCR-RFLP法)により解析することが好ましい。また、PCR法又はPCR法を応用した方法などの遺伝子増幅法により核酸試料を予め増幅(核酸試料の一部領域の増幅を含む)した後、上記いずれかの解析方法を適用することもできる。

一方、多数の核酸試料を解析する場合には、特に、アレル特異的PCR法、アレル特異的ハイブリダイゼーション法、TaqMan-PCR法、Invader法、プライマー伸長法を用いたMALDI-TOF/MS(matrix)法、RCA(rolling cycle amplification)法、又はDNAチップ又はマイクロアレイを用いた方法等、多数の検体を比較的短時間で解析することが可能な解析方法を用いることが好ましい。

【 0 0 1 6 】

以上の方法では、各方法に応じたプライマーやプローブ等の核酸(本発明において、「多型解析用核酸」ともいう)が使用される。多型解析用核酸の例としては、解析対象の多型を含む遺伝子において、当該多型部位を含む一定領域(部分DN

A領域)に相補的な配列を有する核酸を挙げることができる。また、解析対象の多型を含む遺伝子において、当該多型部位を含む一定領域(部分DNA領域)に相補的な配列を有し、当該多型部分を含むDNAフラグメントを特異的に増幅できるように設計された核酸(プライマー)を挙げることができる。このような核酸としては、例えばコネキシン37遺伝子の1019位の多型が解析対象の場合には、1019位の塩基がC(シトシン)であるコネキシン37遺伝子の1019位塩基を含む部分DNA領域に相補的な配列を有する核酸、又は1019位の塩基がT(チミン)であるコネキシン37遺伝子の1019位塩基を含む部分DNA領域に相補的な配列を有する核酸が該当する。

【0017】

多型解析用核酸の他の具体例としては、解析対象の多型部位がいずれかの遺伝子型である場合にのみ、当該多型部位を含む部分DNA領域を特異的に増幅するように設計された核酸セットを挙げることができる。より具体的には、解析対象の多型部位を含む部分DNA領域を特異的に増幅するように設計された核酸セットであって、多型部位がいずれかの遺伝子型であるアンチセンス鎖の当該多型部位を含む部分DNA領域に対して特異的にハイブリダイズするセンスプライマーとセンス鎖の一部領域に対して特異的にハイブリダイズするアンチセンスプライマーからなる核酸セットを例示することができる。このような核酸セットとしては、コネキシン37遺伝子の1019位の多型が解析対象の場合には、コネキシン37遺伝子の1019位塩基を含む部分DNA領域を特異的に増幅するように設計された核酸セットであって、1019位塩基がC(シトシン)であるコネキシン37遺伝子のアンチセンス鎖において1019位塩基を含む部分DNA領域、に対して特異的にハイブリダイズするセンスプライマーとセンス鎖の一部領域に対して特異的にハイブリダイズするアンチセンスプライマーからなる核酸セット、又は1019位塩基がT(チミン)であるコネキシン37遺伝子のアンチセンス鎖において1019位塩基を含む部分DNA領域、に対して特異的にハイブリダイズするセンスプライマー、及びセンス鎖の一部領域に対して特異的にハイブリダイズするアンチセンスプライマーからなる核酸セットが該当する。ここで、増幅される部分DNA領域の長さはその検出に適した範囲で適宜設定され、例えば50 bp~200 bp、好ましくは80 bp~150 bpであ

る。より具体的には、例えばコネキシン37(1019C→T)多型解析用の核酸セットとして次の配列を有するものを例示できる。尚、以下の配列の下線部は多型に対応する部分を表す。また、配列中のNはA、T、C、及びGのいずれかであることを意味する。

【0018】

センスプライマー

CTCAGAATGGCCAAAANCC : 配列番号15、又は

CCTCAGAATGGCCAAAANTC : 配列番号16

アンチセンスプライマー

GCAGAGCTGCTGGGACGA : 配列番号17

【0019】

同様に、TNF α (-863C→A)多型解析用の核酸プライマーとして次の配列を有するものを例示できる。

アンチセンスプライマー

GGCCCTGTCTTCGTTAANGG : 配列番号18、又は

ATGGCCCTGTCTTCGTTAANTG : 配列番号19

センスプライマー

CCAGGGCTATGGAAGTCGAGTATC : 配列番号20

【0020】

同様に、NADH/NADPHオキシダーゼp22フォックス(242C→T)多型解析用の核酸プライマーとして次の配列を有するものを例示できる。

アンチセンスプライマー

ACCACGGCGGTCATGNGC : 配列番号21、又は

ACCACGGCGGTCATGNAC : 配列番号22

センスプライマー

GCAGCAAAGGAGTCCCGAGT : 配列番号23

【0021】

同様に、アンギオテンシノーゲン(-6G→A)多型解析用の核酸プライマーとして次の配列を有するものを例示できる。

アンチセンスプライマー

CGGCAGCTTCTTCCCNCG : 配列番号 24、又は

CGGCAGCTTCTTCCCNTG : 配列番号 25

センスプライマー

CCACCCCTCAGCTATAAATAGG : 配列番号 26

【0022】

同様に、アポE(-219G→T)多型解析用の核酸プライマーとして次の配列を有するものを例示できる。

センスプライマー

GAATGGAGGAGGGTGTCTNGA : 配列番号 27、又は

AGAATGGAGGAGGGTGTCTNIA : 配列番号 28

アンチセンスプライマー

CCAGGAAGGGAGGACACCTC : 配列番号 29

【0023】

同様に、PAFアセチルヒドロラーゼ(994G→T)多型解析用の核酸プライマーとして次の配列を有するものを例示できる。

センスプライマー

TTCTTTTGGTGGAGCAACNGT : 配列番号 30、又は

ATTCTTTTGGTGGAGCAACNTT : 配列番号 31

アンチセンスプライマー

TCTTACCTGAATCTCTGATCTTCA : 配列番号 32

【0024】

同様に、アポC-III(-482C→T)多型解析用の核酸プライマーとして次の配列を有するものを例示できる。

センスプライマー

CGGAGCCACTGATGCNCG : 配列番号 33、又は

CGGAGCCACTGATGCNTG : 配列番号 34

アンチセンスプライマー

TGTTTGGAGTAAAGGCACAGAA : 配列番号 35

【 0 0 2 5 】

同様に、TSP4(1186G→C)多型解析用の核酸プライマーとして次の配列を有するものを例示できる。

センスプライマー

CGAGTTGGGAACGCACNCT : 配列番号 3 6、又は

CGAGTTGGGAACGCACNGT : 配列番号 3 7

アンチセンスプライマー

GGTCTGCACTGACATTGATGAG : 配列番号 3 8

【 0 0 2 6 】

同様に、IL-10(-819T→C)多型解析用の核酸プライマーとして次の配列を有するものを例示できる。

センスプライマー

TACCCTTGTACAGGTGATGTANTA : 配列番号 3 9、又は

TACCCTTGTACAGGTGATGTANCA : 配列番号 4 0

アンチセンスプライマー

ATAGTGAGCAAACCTGAGGCACA : 配列番号 4 1

【 0 0 2 7 】

同様に、IL-10(-592A→C)多型解析用の核酸プライマーとして次の配列を有するものを例示できる。

アンチセンスプライマー

CAGAGACTGGCTTCCTACANGA : 配列番号 4 2、又は

CCAGAGACTGGCTTCCTACANTA : 配列番号 4 3

センスプライマー

GCCTGGAACACATCCTGTGA : 配列番号 4 4

【 0 0 2 8 】

同様に、ストロメライシン1(-1171/5A→6A)多型解析用の核酸プライマーとして次の配列を有するものを例示できる。

センスプライマー

TTTGATGGGGGGAAAAANAC : 配列番号 4 5、又は

TTGATGGGGGAAAANCC : 配列番号 4 6

アンチセンスプライマー

CCTCATATCAATGTGGCCAA : 配列番号 4 7

【0029】

同様に、PAI1(-668/4G→5G)多型解析用の核酸プライマーとして次の配列を有するものを例示できる。

センスプライマー

GGCACAGAGAGAGTCTGGACACG : 配列番号 4 8

アンチセンスプライマー

GGCCGCCTCCGATGATACA : 配列番号 4 9

【0030】

同様に、グリコプロテインIb α (1018C→T)多型解析用の核酸プライマーとして次の配列を有するものを例示できる。

センスプライマー

CCCAGGGCTCCTGNCG : 配列番号 5 0、又は

CCCCAGGGCTCCTGNTG : 配列番号 5 1

アンチセンスプライマー

TGAGCTTCTCCAGCTTGGGTG : 配列番号 5 2

【0031】

同様に、パラオキシナーゼ(584G→A)多型解析用の核酸プライマーとして次の配列を有するものを例示できる。

センスプライマー

ACCCAAATACATCTCCAGGANCG : 配列番号 5 3、又は

AACCCAAATACATCTCCAGGNCT : 配列番号 5 4

アンチセンスプライマー

GAATGATATTGTTGCTGTGGGAC : 配列番号 5 5

【0032】

同様に、アポE(4070C→T)多型解析用の核酸プライマーとして次の配列を有するものを例示できる。

センスプライマー

CCGATGACCTGCAGAANCG : 配列番号 56、又は

GCCGATGACCTGCAGAANTG : 配列番号 57

アンチセンスプライマー

CGGCCTGGTACACTGCCAG : 配列番号 58

【0033】

一方、プローブの具体例として以下のものを挙げることができる。

アポC-III(-482C→T)多型解析用プローブとして

AGCCACTGATGCNCGGTCT : 配列番号 59、又は

AGCCACTGATGCNTGGTCT : 配列番号 60。

【0034】

IL-10(-819T→C)多型解析用プローブとして

GTACAGGTGATGTANTATCTCTGTG : 配列番号 61、又は

GTACAGGTGATGTANCATCTCTGTG : 配列番号 62。

【0035】

PAI1(-668/4G→5G)多型解析用プローブとして

TGGACACGTGGGGGAGTCAG : 配列番号 63、又は

TGGACACGTGGGGGAGTCAGC : 配列番号 64。

【0036】

以上の核酸プライマー、核酸プローブは単なる一例であって、核酸プライマーであれば目的の増幅反応を支障なく行える限度において、他方核酸プローブであれば目的のハイブリダイゼーション反応を支障なく行える限度において一部の塩基配列に改変が施されたものであってもよい。ここでの「一部の改変」とは、塩基の一部が欠失、置換、挿入及び／又は付加されていることを意味する。改変にかかる塩基数は、例えば1～7個、好ましくは1～5個、更に好ましくは、1～3個である。尚、このような改変は、原則として多型部位に対応する塩基以外の部分において行われる。ただし、解析対象の多型がストロメライシン1(-1171/5A→6A)多型又はPAI1(-668/4G→5G)多型の場合には、多型部位に対応する塩基の一部を改変して得られる核酸をプライマー又はプローブとして用いることも可能である。

【 0 0 3 7 】

多型解析用核酸（プローブ、プライマー）には、解析方法に応じて適宜DNA断片又はRNA断片が用いられる。多型解析用核酸の塩基長はそれぞれの機能が発揮される長さであればよく、プライマーとして用いられる場合の塩基長の例としては10～50bp程度、好ましくは15～40bp程度、更に好ましくは15～30bp程度である。

尚、プライマーとして用いられる場合には増幅対象に特異的にハイブリダイズし、目的のDNAフラグメントを増幅することができる限り鋳型となる配列に対して多少のミスマッチがあってもよい。プローブの場合も同様に、検出対象の配列と特異的なハイブリダイズが行える限り、検出対象の配列に対して多少のミスマッチがあってもよい。ミスマッチの程度としては、1～数個、好ましくは1～5個、更に好ましくは1～3個である。

多型解析用核酸（プライマー、プローブ）はホスホジエステル法など公知の方法によって合成することができる。尚、多型解析用核酸の設計、合成等に関しては成書（例えば、Molecular Cloning, Third Edition, Cold Spring Harbor Laboratory Press, New York）を参考にすることができる。

【 0 0 3 8 】

本発明における多型解析用核酸を予め標識物質で標識しておくことができる。このような標識化核酸を用いることにより、例えば増幅産物の標識量を指標として多型の解析を行うことができる。また、多型を構成する各遺伝子型の遺伝子における部分DNA領域をそれぞれ特異的に増幅するように設計された2種類のプライマーを互いに異なる標識物質で標識しておけば、増幅産物から検出される標識物質及び標識量によって核酸試料の遺伝子型を判別できる。このような標識化プライマーを用いた検出方法の具体例としては、多型を構成する各遺伝子型のセンス鎖にそれぞれ特異的にハイブリダイズする2種類の核酸プライマー（アリル特異的センスプライマー）をフルオレセインイソチオシアネートとテキサスレッドでそれぞれ標識し、これら標識化プライマーとアンチセンス鎖に特異的にハイブリダイズするアンチセンスプライマーとを用いて多型部位を含む部分DNA領域を増幅し、得られた増幅産物における各蛍光物質の標識量を測定して多型を検出す

る方法を挙げることができる。尚、ここでのアンチセンスプライマーを例えばピオチンで標識しておけば、ピオチンとアビジンとの特異的な結合を利用して増幅産物の分離を行うことができる。

【0039】

多型解析用核酸の標識に用いられる標識物質としては ^{32}P などの放射性同位元素、フルオレセインイソチオシアネート、テトラメチルローダミンイソチオシアネート、テキサスレッドなどの蛍光物質を例示でき、標識方法としてはアルカリフォスファターゼ及びT4ポリヌクレオチドキナーゼを用いた5'末端標識法、T4 DNAポリメラーゼやKlenow断片を用いた3'末端標識法、ニックトランスレーション法、ランダムプライマー法 (Molecular Cloning, Third Edition, Chapter 9, Cold Spring Harbor Laboratory Press, New York) などを例示できる。

【0040】

以上の多型解析用核酸を不溶性支持体に固定化した状態で用いることもできる。固定化に使用する不溶性支持体をチップ状、ビーズ状などに加工しておけば、これら固定化核酸を用いて多型の解析をより簡便に行うことができる。

【0041】

核酸試料は、被験者の血液、皮膚細胞、粘膜細胞、毛髪等から公知の抽出方法、精製方法を用いて調製することができる。多型解析対象の遺伝子を含むものであれば、任意の長さのゲノムDNAを核酸試料として用いることができる。また、必ずしも解析対象の遺伝子のすべてが一の核酸上に存在する核酸試料を用いる必要はない。即ち、本発明の核酸試料としては、解析対象の遺伝子のすべてが一の核酸上に存在しているもの、解析対象の遺伝子が二以上の核酸上に分かれて存在しているもののいずれをも用いることができる。尚、核酸試料において解析対象の遺伝子が完全な状態（即ち、遺伝子の全長が存在する状態）でなくても、少なくとも解析される多型部位が存在している限りにおいて断片的、部分的な状態であってもよい。

【0042】

各遺伝子多型の解析は遺伝子多型ごとに、又は複数若しくは全部を同時に行う。前者の場合としては、例えば被験者から得た核酸試料を解析対象の多型の数に

合わせて分注し、各多型の解析を個別に行う。後者の場合としては、例えばDNAチップまたはマイクロアレイによって行うことができる。尚、ここでいう同時とは解析過程のすべての操作が同時に行われることのみを意味するのではなく、一部の操作（例えば、核酸増幅操作、プローブのハイブリダイズ、又は検出）が同時に行われる場合も含む。

【0043】

解析対象の遺伝子の転写産物であるmRNAを利用して各遺伝子の多型を解析することもできる。例えば、被験者の血液、尿等から解析対象である遺伝子のmRNAを抽出、精製した後、ノーザンブロット法 (Molecular Cloning, Third Edition, 7.42, Cold Spring Harbor Laboratory Press, New York)、ドットブロット法 (Molecular Cloning, Third Edition, 7.46, Cold Spring Harbor Laboratory Press, New York)、RT-PCR法 (Molecular Cloning, Third Edition, 8.46, Cold Spring Harbor Laboratory Press, New York)、DNAチップ (DNAアレイ) を用いた方法などを実行することにより、mRNAを出発材料として多型解析を行うことができる。

【0044】

さらに、上記の多型の中でアミノ酸の変化を伴うものについては、解析対象の遺伝子の発現産物を用いて多型解析を行うこともできる。この場合、多型部位に対応するアミノ酸を含んでいる限り、部分タンパク質、部分ペプチドであっても解析用試料として用いることができる。

【0045】

このような遺伝子の発現産物を用いて解析する方法としては、多型部位のアミノ酸を直接分析する方法、又は立体構造の変化を利用して免疫学的に分析する方法などが挙げられる。前者としては、周知のアミノ酸配列分析法（エドマン法を利用した方法）を用いることができる。後者としては、多型を構成するいずれかの遺伝子型を有する遺伝子の発現産物に特異的な結合活性を有するモノクローナル抗体又はポリクローナル抗体を用いた、ELISA法（酵素結合免疫吸着定量法）、ラジオイムノアッセイ、免疫沈降法、免疫拡散法等などを用いることができる。

【 0 0 4 6 】

以上説明した本発明の検出方法を実行することにより得られる多型情報は、心筋梗塞の遺伝的リスクの診断に利用することができる。即ち、本発明は以上の検出方法によって得られる多型情報から核酸試料の遺伝子型を決定する工程、及び決定された核酸試料の遺伝子型から遺伝的リスクを求める工程を含んでなる、心筋梗塞のリスク診断方法も提供する。ここでの遺伝子型の決定は、典型的には、検出対象の多型に関して核酸試料の両アレルがいずれの遺伝子型をそれぞれ有するかを決定することである。コネキシン37(1019C→T)多型が検出対象である場合を例に採れば、典型的には核酸試料におけるコネキシン37の遺伝子型がTT(1019位塩基が両アレル共にTのホモ接合体)、CT(1019位塩基がCのアレルとTのアレルとのヘテロ接合体)、及びCC(1019位塩基が両アレル共にCのホモ接合体)の中のいずれであるかを決定することである。

【 0 0 4 7 】

後述の実施例で得られた結果を考慮すれば、高精度かつ予知確率の高い心筋梗塞の遺伝的リスクの診断を可能とするために、例えばコネキシン37(1019C→T)多型であれば核酸試料の遺伝子型がTT又はCTのいずれかであるか、それともCCであるかが決定される。同様に、TNF α (-863C→A)多型であればAA又はCAのいずれかであるか、それともCCであるか、NADH/NADPHオキシダーゼp22フォックス(242C→T)多型であればTT又はCTのいずれかであるか、それともCCであるか、アンギオテンシノーゲン(-6G→A)多型であればAAであるか、それともGA又はGGのいずれかであるか、アポE-219(-219G→T)多型であればTTであるか、それともGT又はGGのいずれかであるか、PAFアセチルヒドロラーゼ(994G→T)多型であればTT又はGTのいずれかであるか、それともGGであるか、アポC-III(-482C→T)多型であればTTであるか、それともCT又はCCのいずれかであるか、TSP4(1186G→C)多型であればCC又はGCのいずれかであるか、それともGGであるか、IL-10(-819T→C)多型であればCCであるか、それともCT又はTTのいずれかであるか、IL-10(-592A→C)多型であればCCであるか、それともCA又はAAのいずれかであるか、ストロメライシン1(-1171/5A→6A)多型であれば6A/6A又は5A/6Aのいずれかであるか、それとも5A/5Aであるか、PAI1(-668/4G→5G)多型であれば5G/5G又は4G/5Gのいずれかであるか

、それとも4G/4Gであるか、グリコプロテインIb α (1018G→T)多型であればTTであるか、それともCT又はCCのいずれかであるか、パラオキシナーゼ (584G→A)多型であればAAであるか、それともGA又はGGのいずれかであるか、アポE (4070C→T)多型であればTTであるか、それともCT又はCCのいずれかであるかが決定される。

【0048】

心筋梗塞の遺伝的リスクを診断することにより、将来的に心筋梗塞を罹患するおそれの程度（発症し易さ）、即ち発症リスク（発症脆弱性）が予測され、また遺伝子型という客観的指標に基づいて心筋梗塞の認定や病状の把握を行うことが可能となる。換言すれば、本発明の診断方法によって心筋梗塞の発症リスクの評価、心筋梗塞に罹患していることの認定、又は症状の把握を行うことができる。中でも発症リスクの評価を行えることは臨床上極めて有意義である。発症リスクを事前に知ることは心筋梗塞の一次予防に貢献し、適切な予防措置を講じることが可能とするからである。

本発明の診断方法によって得られる情報は、適切な治療法の選択や、予後の改善、患者のQOL（クオリティー・オブ・ライフ）の向上、又は発症リスクの低減などに利用することができる。

【0049】

本発明の診断方法を定期的に実行することにより、心筋梗塞の発症リスク等をモニターすることができる。このようなモニターの結果、ある外的因子（環境因子、薬剤の投与など）と発症リスク等の増加との間に相関関係が認められれば、当該外的因子を危険因子と認定し、この情報を基に発症リスク等の低減を図ることが可能と考えられる。

【0050】

本発明で得られる心筋梗塞の発症に関連する遺伝情報を利用して、心筋梗塞の治療（予防的処置を含む）を行うことができる。例えば、本発明の診断方法を実施した結果、解析対象の多型が心筋梗塞の発症リスクを高める遺伝子型であった場合に、発症リスクの低い遺伝子型を有する遺伝子を生体内に導入して発現させれば、当該遺伝子が発現することによって症状の軽減、発症の抑制、発症リスク

の軽減などを期待できる。発症リスクの高い遺伝子型を有する遺伝子のmRNAに対するアンチセンス鎖を導入し、当該mRNAの発現を抑制する方法によっても、同様の治療効果が期待される。

【0051】

遺伝子又はアンチセンス鎖の導入は、例えば、遺伝子導入用プラスミド又はウイルスベクターを用いた方法、エレクトロポレーション(Potter, H. et al., Proc. Natl. Acad. Sci. U.S.A. 81, 7161-7165(1984))、超音波マイクロバブル(Lawrie, A., et al. Gene Therapy 7, 2023-2027 (2000))、リポフェクション(Felgner, P.L. et al., Proc. Natl. Acad. Sci. U.S.A. 84, 7413-7417(1984))、マイクロインジェクション(Graessmann, M. & Graessmann, A., Proc. Natl. Acad. Sci. U.S.A. 73, 366-370(1976))等の方法により行うことができる。これらの方法を利用して、所望の遺伝子などを生体に対して直接的に導入(in vivo法)又は間接的に導入(ex vivo法)することができる。

【0052】

本発明の第2の局面は、上述した本発明の検出方法又は診断方法に使用されるキット(遺伝子型検出用キット、又は心筋梗塞診断用キット)を提供する。かかるキットには、上記の(1)～(10)の多型からなるグループより選択される二つ以上の多型を解析するための核酸(多型解析用核酸)が含まれる。又は上記の(11)～(15)の多型からなるグループより選択される二つ以上の多型を解析するための核酸(多型解析用核酸)が含まれる。更に他の態様としては、上記の(15)の多型を解析するための核酸が含まれてキットが構成される。

多型解析用核酸は、それが適用される解析方法(上述したアリル特異的核酸等を用いたPCR法を利用する方法、PCR-RFLP法、PCR-SSCP、TaqMan-PCR法、Invader法等)において、解析対象の多型部分を含むDNA領域又はそれに対応するmRNAを特異的に増幅できるもの(プライマー)又は特異的に検出できるもの(プローブ)として設計される。以下に、本発明において提供されるキットの具体例を示す。

【0053】

以下の(1)～(10)からなるグループより選択される二つ以上の核酸を含んでな

る遺伝子型検出用キット、

(1)1019位塩基がCであるコネキシン37遺伝子の1019位塩基を含む部分DNA領域に相補的な配列を有する核酸、又は1019位塩基がTであるコネキシン37遺伝子の1019位塩基を含む部分DNA領域に相補的な配列を有する核酸、

(2)-863位塩基がCである腫瘍壊死因子 α 遺伝子の-863位塩基を含む部分DNA領域に相補的な配列を有する核酸、又は-863位塩基がAである腫瘍壊死因子 α 遺伝子の-863位塩基を含む部分DNA領域に相補的な配列を有する核酸、

(3)242位塩基がCであるNADH/NADPHオキシダーゼp22フォックス遺伝子の242位塩基を含む部分DNA領域に相補的な配列を有する核酸、又は242位塩基がTである腫瘍壊死因子 α 遺伝子の242位塩基を含む部分DNA領域に相補的な配列を有する核酸、

(4)-6位塩基がGであるアンギオテンシノーゲン遺伝子の-6位塩基を含む部分DNA領域に相補的な配列を有する核酸、又は-6位塩基がAであるアンギオテンシノーゲン遺伝子の-6位塩基を含む部分DNA領域に相補的な配列を有する核酸、

(5)-219位塩基がGであるアポリポプロテインE遺伝子の-219位塩基を含む部分DNA領域に相補的な配列を有する核酸、又は-219位塩基がTであるアポリポプロテインE遺伝子の-219位塩基を含む部分DNA領域に相補的な配列を有する核酸、

(6)994位塩基がGである血小板活性化因子アセチルヒドロラーゼ遺伝子の994位塩基を含む部分DNA領域に相補的な配列を有する核酸、又は994位塩基がTである血小板活性化因子アセチルヒドロラーゼ遺伝子の994位塩基を含む部分DNA領域に相補的な配列を有する核酸、

(7)-482位塩基がCであるアポリポプロテインC-III遺伝子の-482位塩基を含む部分DNA領域に相補的な配列を有する核酸、又は-482位塩基がTであるアポリポプロテインC-III遺伝子の-482位塩基を含む部分DNA領域に相補的な配列を有する核酸、

(8)1186位塩基がGであるトロンボスポンジン4遺伝子の1186位塩基を含む部分DNA領域に相補的な配列を有する核酸、又は1186位塩基がCであるトロンボスポンジン4遺伝子の1186位塩基を含む部分DNA領域に相補的な配列を有する核酸、

(9)-819位塩基がTであるインターロイキン10遺伝子の-819位塩基を含む部分DNA領域に相補的な配列を有する核酸、

A領域に相補的な配列を有する核酸、又は-819位塩基がCであるインターロイキン10遺伝子の-819位塩基を含む部分DNA領域に相補的な配列を有する核酸、及び

(10)-592位塩基がAであるインターロイキン10遺伝子の-592位塩基を含む部分DNA領域に相補的な配列を有する核酸、又は-592位塩基がCであるインターロイキン10遺伝子の-592位塩基を含む部分DNA領域に相補的な配列を有する核酸。

以上では、(1)～(10)からなるグループから二つ以上の核酸を選択してキットを構成しているが、(1)～(10)の二つ以上を任意に選択してグループとし、かかるグループから二つ以上の核酸を選択してキットを構成してもよい。例えば、(1)、(5)(6)、(8)、(9)及び(10)からなるグループ（後述の実施例においてオッズ比が1以上の多型を解析するための核酸）より二つ以上の核酸を選択してキットを構成したり、(1)、(5)、(6)、(8)及び(9)からなるグループ（後述の実施例においてオッズ比が上位5位までの多型を解析するための核酸）より二つ以上の核酸を選択してキットを構成することができる。

【 0 0 5 4 】

以下の(11)～(15)からなるグループより選択される二つ以上の核酸を含んでなる遺伝子型検出用キット、

(11)-1171位から3'方向にAが5個連続して存在するストロメライシン1遺伝子の該配列部分を含む部分DNA領域に相補的な配列を有する核酸、又は-1171位から3'方向にAが6個連続して存在するストロメライシン1遺伝子の該配列部分を含む部分DNA領域に相補的な配列を有する核酸、

(12)-668位から3'方向に連続して4個のGが存在するプラスミノーゲン活性化因子インヒビター1遺伝子の該配列部分を含む部分DNA領域に相補的な配列を有する核酸、又は-668位から3'方向に連続して5個のGが存在するプラスミノーゲン活性化因子インヒビター1遺伝子の該配列部分を含む部分DNA領域に相補的な配列を有する核酸、

(13)1018位塩基がCであるグリコプロテインIb α 遺伝子の1018位塩基を含む部分DNA領域に相補的な配列を有する核酸、又は1018位塩基がTであるグリコプロテインIb α 遺伝子の1018位塩基を含む部分DNA領域に相補的な配列を有する核酸、

(14)584位塩基がGであるパラオキシナーゼ遺伝子の584位塩基を含む部分DNA領

域に相補的な配列を有する核酸、又は584位塩基がAであるパラオキシナーゼ遺伝子の584位塩基を含む部分DNA領域に相補的な配列を有する核酸、及び

(15)4070位塩基がCであるアポリポプロテインE遺伝子の4070位塩基を含む部分DNA領域に相補的な配列を有する核酸、又は4070位塩基がTであるアポリポプロテインE遺伝子の4070位塩基を含む部分DNA領域に相補的な配列を有する核酸。

以上では、(11)～(15)からなるグループから二つ以上の核酸を選択してキットを構成しているが、(11)～(15)の二つ以上を任意に選択してグループとし、かかるグループから二つ以上の核酸を選択してキットを構成してもよい。例えば、(11)、(12)、(14)及び(15)からなるグループ（後述の実施例においてオッズ比が1以上の多型を解析するための核酸）より二つ以上の核酸セットを選択してキットを構成したり、(11)、(12)及び(15)からなるグループ（後述の実施例においてオッズ比が上位3位までの多型を解析するための核酸）より二つ以上の核酸を選択してキットを構成することができる。

【0055】

以下の核酸を含んでなる遺伝子型検出用キット、

4070位塩基がCであるアポリポプロテインE遺伝子の4070位塩基を含む部分DNA領域に相補的な配列を有する核酸、又は4070位塩基がTであるアポリポプロテインE遺伝子の4070位塩基を含む部分DNA領域に相補的な配列を有する核酸。

【0056】

以下の(1)～(10)からなるグループより選択される二つ以上の核酸セットを含んでなる遺伝子型検出用キット、

(1)核酸試料中のコネキシン37遺伝子の1019位塩基がCである場合にのみ、該コネキシン37遺伝子の1019位塩基を含む部分DNA領域を特異的に増幅するように設計された核酸セット、又は核酸試料中のコネキシン37遺伝子の1019位塩基がTである場合にのみ、該コネキシン37遺伝子の1019位塩基を含む部分DNA領域を特異的に増幅するように設計された核酸セット、

(2)核酸試料中の腫瘍壊死因子 α 遺伝子の-863位塩基がCである場合にのみ、該腫瘍壊死因子 α 遺伝子の-863位塩基を含む部分DNA領域を特異的に増幅するように設計された核酸セット、又は核酸試料中の腫瘍壊死因子 α 遺伝子の-863位塩基

がAである場合にのみ、該腫瘍壊死因子 α 遺伝子の-863位塩基を含む部分DNA領域を特異的に増幅するように設計された核酸セット、

(3)核酸試料中のNADH/NADPHオキシダーゼp22フォックス遺伝子の242位塩基がCである場合にのみ、該NADH/NADPHオキシダーゼp22フォックス遺伝子の242位塩基を含む部分DNA領域を特異的に増幅するように設計された核酸セット、又は核酸試料中のNADH/NADPHオキシダーゼp22フォックス遺伝子の242位塩基がTである場合にのみ、該NADH/NADPHオキシダーゼp22フォックス遺伝子の242位塩基を含む部分DNA領域を特異的に増幅するように設計された核酸セット、

(4)核酸試料中のアンギオテンシノーゲン遺伝子の-6位塩基がGである場合にのみ、該アンギオテンシノーゲン遺伝子の-6位塩基を含む部分DNA領域を特異的に増幅するように設計された核酸セット、又は核酸試料中のアンギオテンシノーゲン遺伝子の-6位塩基がAである場合にのみ、該アンギオテンシノーゲン遺伝子の-6位塩基を含む部分DNA領域を特異的に増幅するように設計された核酸セット、

(5)核酸試料中のアポリポプロテインE遺伝子の-219位塩基がGである場合にのみ、該アポリポプロテインE遺伝子の-219位塩基を含む部分DNA領域を特異的に増幅するように設計された核酸セット、又は核酸試料中のアポリポプロテインE遺伝子の-219位塩基がTである場合にのみ、該アポリポプロテインE遺伝子の-219位塩基を含む部分DNA領域を特異的に増幅するように設計された核酸セット、

(6)核酸試料中の血小板活性化因子アセチルヒドロラーゼ遺伝子の994位塩基がGである場合にのみ、該血小板活性化因子アセチルヒドロラーゼ遺伝子の994位塩基を含む部分DNA領域を特異的に増幅するように設計された核酸セット、又は核酸試料中の血小板活性化因子アセチルヒドロラーゼ遺伝子の994位塩基がTである場合にのみ、該血小板活性化因子アセチルヒドロラーゼ遺伝子の994位塩基を含む部分DNA領域を特異的に増幅するように設計された核酸セット、

(7)核酸試料中のアポリポプロテインC-III遺伝子の-482位塩基がCである場合にのみ、該アポリポプロテインC-III遺伝子の-482位塩基を含む部分DNA領域を特異的に増幅するように設計された核酸セット、又は核酸試料中のアポリポプロテインC-III遺伝子の-482位塩基がTである場合にのみ、該アポリポプロテインC-II I遺伝子の-482位塩基を含む部分DNA領域を特異的に増幅するように設計された核

酸セット、

(8) 核酸試料中のトロンボスポンジン4遺伝子の1186位塩基がGである場合にのみ、該トロンボスポンジン4遺伝子の1186位塩基を含む部分DNA領域を特異的に増幅するように設計された核酸セット、又は核酸試料中のトロンボスポンジン4遺伝子の1186位塩基がCである場合にのみ、該トロンボスポンジン4遺伝子の1186位塩基を含む部分DNA領域を特異的に増幅するように設計された核酸セット、

(9) 核酸試料中のインターロイキン10遺伝子の-819位塩基がTである場合にのみ、該インターロイキン10遺伝子の-819位塩基を含む部分DNA領域を特異的に増幅するように設計された核酸セット、又は核酸試料中のインターロイキン10遺伝子の-819位塩基がCである場合にのみ、該インターロイキン10遺伝子の-819位塩基を含む部分DNA領域を特異的に増幅するように設計された核酸セット、及び

(10) 核酸試料中のインターロイキン10遺伝子の-592位塩基がAである場合にのみ、該インターロイキン10遺伝子の-592位塩基を含む部分DNA領域を特異的に増幅するように設計された核酸セット、又は核酸試料中のインターロイキン10遺伝子の-592位塩基がCである場合にのみ、該インターロイキン10遺伝子の-592位塩基を含む部分DNA領域を特異的に増幅するように設計された核酸セット。

以上では、(1)～(10)からなるグループから二つ以上の核酸セットを選択してキットを構成しているが、(1)～(10)の二つ以上を任意に選択してグループとし、かかるグループから二つ以上の核酸セットを選択してキットを構成してもよい。例えば、(1)、(5)、(6)、(8)、(9)及び(10)からなるグループ（後述の実施例においてオッズ比が1以上の多型を解析するための核酸セット）より二つ以上の核酸セットを選択してキットを構成したり、(1)、(5)、(6)、(8)及び(9)からなるグループ（後述の実施例においてオッズ比が上位5位までの多型を解析するための核酸セット）より二つ以上の核酸セットを選択してキットを構成することができる。

【 0 0 5 7 】

以下の(11)～(15)からなるグループより選択される二つ以上の核酸セットを含んでなる遺伝子型検出用キット、

(11) 核酸試料中のストロメライシン1遺伝子において-1171位から3'方向にAが5

個連続して存在する場合にのみ、該ストロメライシン1遺伝子の該配列部分を含む部分DNA領域を特異的に増幅するように設計された核酸セット、又は核酸試料中のストロメライシン1遺伝子において-1171位から3'方向にAが6個連続して存在する場合にのみ、該ストロメライシン1遺伝子の該配列部分を含む部分DNA領域を特異的に増幅するように設計された核酸セット、

(12)核酸試料中のプラスミノーゲン活性化因子インヒビター1遺伝子において-668位から3'方向にGが4個連続して存在する場合にのみ、プラスミノーゲン活性化因子インヒビター1遺伝子の該配列部分を含む部分DNA領域を特異的に増幅するように設計された核酸セット、又は核酸試料中のプラスミノーゲン活性化因子インヒビター1遺伝子において-668位から3'方向にGが5個連続して存在する場合にのみ、該プラスミノーゲン活性化因子インヒビター1遺伝子の該配列部分を含む部分DNA領域を特異的に増幅するように設計された核酸セット、

(13)核酸試料中のグリコプロテインIb α 遺伝子の1018位塩基がCである場合にのみ、該グリコプロテインIb α 遺伝子の1018位塩基を含む部分DNA領域を特異的に増幅するように設計された核酸セット、又は核酸試料中のグリコプロテインIb α 遺伝子の1018位塩基がTである場合にのみ、該グリコプロテインIb α 遺伝子の1018位塩基を含む部分DNA領域を特異的に増幅するように設計された核酸セット、

(14)核酸試料中のパラオキシナーゼ遺伝子の584位塩基がGである場合にのみ、該パラオキシナーゼ遺伝子の584位塩基を含む部分DNA領域を特異的に増幅するように設計された核酸セット、又は核酸試料中のパラオキシナーゼ遺伝子の584位塩基がAである場合にのみ、該パラオキシナーゼ遺伝子の584位塩基を含む部分DNA領域を特異的に増幅するように設計された核酸セット、及び

(15)核酸試料中のアポリポプロテインE遺伝子の4070位塩基がCである場合にのみ、該アポリポプロテインE遺伝子の4070位塩基を含む部分DNA領域を特異的に増幅するように設計された核酸セット、又は核酸試料中のアポリポプロテインE遺伝子の4070位塩基がTである場合にのみ、該アポリポプロテインE遺伝子の4070位塩基を含む部分DNA領域を特異的に増幅するように設計された核酸セット。

以上では、(11)～(15)からなるグループから二つ以上の核酸セットを選択してキットを構成しているが、(11)～(15)の二つ以上を任意に選択してグループとし

、かかるグループから二つ以上の核酸セットを選択してキットを構成してもよい。例えば、(11)、(12)、(14)及び(15)からなるグループ（後述の実施例においてオッズ比が1以上の多型を解析するための核酸セット）より二つ以上の核酸セットを選択してキットを構成したり、(11)、(12)及び(15)からなるグループ（後述の実施例においてオッズ比が上位3位までの多型を解析するための核酸セット）より二つ以上の核酸セットを選択してキットを構成することができる。

【0058】

以下の核酸セットを含んでなる遺伝子型検出用キット、

核酸試料中のアポリポプロテインE遺伝子の4070位塩基がCである場合にのみ、該アポリポプロテインE遺伝子の4070位塩基を含む部分DNA領域を特異的に増幅するように設計された核酸セット、又は核酸試料中のアポリポプロテインE遺伝子の4070位塩基がTである場合にのみ、該アポリポプロテインE遺伝子の4070位塩基を含む部分DNA領域を特異的に増幅するように設計された核酸セット。

【0059】

以下の(1)～(10)からなるグループより選択される二つ以上の核酸セットを含んでなる遺伝子型検出用キット、

(1)コネキシン37遺伝子の1019位塩基を含む部分DNA領域を特異的に増幅するように設計された核酸セットであって、1019位塩基がCであるコネキシン37遺伝子において1019位塩基を含む部分DNA領域、に対して特異的にハイブリダイズするセンスプライマー及び／又は1019位塩基がTであるコネキシン37遺伝子において1019位塩基を含む部分DNA領域、に対して特異的にハイブリダイズするセンスプライマーと、コネキシン37遺伝子の一部領域に対して特異的にハイブリダイズするアンチセンスプライマーと、からなる核酸セット、

(2)腫瘍壊死因子 α 遺伝子の-863位塩基を含む部分DNA領域を特異的に増幅するように設計された核酸セットであって、-863位塩基がCである腫瘍壊死因子 α 遺伝子において-863位塩基を含む部分DNA領域、に対して特異的にハイブリダイズするアンチセンスプライマー及び／又は-863位塩基がAである腫瘍壊死因子 α 遺伝子において-863位塩基を含む部分DNA領域、に対して特異的にハイブリダイズするアンチセンスプライマーと、腫瘍壊死因子 α 遺伝子の一部領域に対して特異

的にハイブリダイズするセンスプライマーと、からなる核酸セット、

(3) NADH/NADPHオキシダーゼp22フォックス遺伝子の242位塩基を含む部分DNA領域を特異的に増幅するように設計された核酸セットであって、242位塩基がCであるNADH/NADPHオキシダーゼp22フォックス遺伝子において-863位塩基を含む部分DNA領域、に対して特異的にハイブリダイズするアンチセンスプライマー及び／又は242位塩基がTであるNADH/NADPHオキシダーゼp22フォックス遺伝子において242位塩基を含む部分DNA領域、に対して特異的にハイブリダイズするアンチセンスプライマーと、NADH/NADPHオキシダーゼp22フォックス遺伝子の一部領域に対して特異的にハイブリダイズするセンスプライマーと、からなる核酸セット、

(4) アンギオテンシノーゲン遺伝子の-6位塩基を含む部分DNA領域を特異的に増幅するように設計された核酸セットであって、-6位塩基がGであるアンギオテンシノーゲン遺伝子において-6位塩基を含む部分DNA領域、に対して特異的にハイブリダイズするアンチセンスプライマー及び／又は-6位塩基がAであるアンギオテンシノーゲン遺伝子において-6位塩基を含む部分DNA領域、に対して特異的にハイブリダイズするアンチセンスプライマーと、アンギオテンシノーゲン遺伝子の一部領域に対して特異的にハイブリダイズするセンスプライマーと、からなる核酸セット、

(5) アポリポプロテインE遺伝子の-219位塩基を含む部分DNA領域を特異的に増幅するように設計された核酸セットであって、-219位塩基がGであるアポリポプロテインE遺伝子において-219位塩基を含む部分DNA領域、に対して特異的にハイブリダイズするセンスプライマー及び／又は-219位塩基がTであるアポリポプロテインE遺伝子において-219位塩基を含む部分DNA領域、に対して特異的にハイブリダイズするセンスプライマーと、アポリポプロテインE遺伝子の一部領域に対して特異的にハイブリダイズするアンチセンスプライマーと、からなる核酸セット、

(6) 血小板活性化因子アセチルヒドロラーゼ遺伝子の994位塩基を含む部分DNA領域を特異的に増幅するように設計された核酸セットであって、994位塩基がGである血小板活性化因子アセチルヒドロラーゼ遺伝子において994位塩基を含む部分DNA領域、に対して特異的にハイブリダイズするセンスプライマー及び／又は9

94位塩基がTである血小板活性化因子アセチルヒドロラーゼ遺伝子において994位塩基を含む部分DNA領域、に対して特異的にハイブリダイズするセンスプライマーと、血小板活性化因子アセチルヒドロラーゼ遺伝子の一部領域に対して特異的にハイブリダイズするアンチセンスプライマーと、からなる核酸セット、

(7)アポリポプロテインC-III遺伝子の-482位塩基を含む部分DNA領域を特異的に増幅するように設計された核酸セットであって、-482位塩基がCであるアポリポプロテインC-III遺伝子において-482位塩基を含む部分DNA領域、に対して特異的にハイブリダイズするセンスプライマー及び／又は-482位塩基がTであるアポリポプロテインC-III遺伝子において-482位塩基を含む部分DNA領域、に対して特異的にハイブリダイズするセンスプライマーと、アポリポプロテインC-III遺伝子の一部領域に対して特異的にハイブリダイズするアンチセンスプライマーと、からなる核酸セット、

(8)トロンボスポンジン4遺伝子の1186位塩基を含む部分DNA領域を特異的に増幅するように設計された核酸セットであって、1186位塩基がGであるトロンボスポンジン4遺伝子において1186位塩基を含む部分DNA領域、に対して特異的にハイブリダイズするセンスプライマー及び／又は1186位塩基がCであるトロンボスポンジン4遺伝子において1186位塩基を含む部分DNA領域、に対して特異的にハイブリダイズするセンスプライマーと、トロンボスポンジン4遺伝子の一部領域に対して特異的にハイブリダイズするアンチセンスプライマーと、からなる核酸セット、

(9)インターロイキン10遺伝子の-819位塩基を含む部分DNA領域を特異的に増幅するように設計された核酸セットであって、-819位塩基がTであるインターロイキン10遺伝子において-819位塩基を含む部分DNA領域、に対して特異的にハイブリダイズするセンスプライマー及び／又は1186位塩基がCであるインターロイキン10遺伝子において-819位塩基を含む部分DNA領域、に対して特異的にハイブリダイズするセンスプライマーと、インターロイキン10遺伝子の一部領域に対して特異的にハイブリダイズするアンチセンスプライマーと、からなる核酸セット、及び

(10)インターロイキン10遺伝子の-592位塩基を含む部分DNA領域を特異的に増

幅するように設計された核酸セットであって、-592位塩基がAであるインターロイキン10遺伝子において-592位塩基を含む部分DNA領域、に対して特異的にハイブリダイズするアンチセンスプライマー及び／又は-592位塩基がCであるインターロイキン10遺伝子において-592位塩基を含む部分DNA領域、に対して特異的にハイブリダイズするアンチセンスプライマーと、インターロイキン10遺伝子の一部領域に対して特異的にハイブリダイズするセンスプライマーと、からなる核酸セット。

以上では、(1)～(10)からなるグループから二つ以上の核酸セットを選択してキットを構成しているが、(1)～(10)の二つ以上を任意に選択してグループとし、かかるグループから二つ以上の核酸セットを選択してキットを構成してもよい。例えば、(1)、(5)、(6)、(8)、(9)及び(10)からなるグループ（後述の実施例においてオッズ比が1以上の多型を解析するための核酸セット）より二つ以上の核酸セットを選択してキットを構成したり、(1)、(5)、(6)、(8)及び(9)からなるグループ（後述の実施例においてオッズ比が上位5位までの多型を解析するための核酸セット）より二つ以上の核酸セットを選択してキットを構成することができる。

【 0 0 6 0 】

以下の(11)～(15)からなるグループより選択される二つ以上の核酸セットを含んでなる遺伝子型検出用キット、

(11)ストロメライシン1遺伝子の-1171位における多型部分を含む部分DNA領域を特異的に増幅するように設計された核酸セットであって、-1171位から3'方向にAが5個連続して存在するストロメライシン1遺伝子において当該配列部分を含む部分DNA領域、に対して特異的にハイブリダイズするセンスプライマー及び／又は-1171位から3'方向にAが6個連続して存在するストロメライシン1遺伝子において当該配列部分を含む部分DNA領域、に対して特異的にハイブリダイズするセンスプライマーと、ストロメライシン1遺伝子の一部領域に対して特異的にハイブリダイズするアンチセンスプライマーと、からなる核酸セット、

(12)プラスミノーゲン活性化因子インヒビター1遺伝子の-668位における多型部分を含む部分DNA領域を特異的に増幅するように設計された一組のプライマー

と、並びに-668位から3' 方向にGが4個連続して存在するプラスミノーゲン活性化因子インヒビター1遺伝子において該配列部分を含む部分DNA領域、に対して特異的にハイブリダイズするプローブ及び／又は-668位から3' 方向にGが5個連続して存在するプラスミノーゲン活性化因子インヒビター1遺伝子において該配列部分を含む部分DNA領域、に対して特異的にハイブリダイズするプローブと、からなる核酸セット、

(13) グリコプロテインIb α 遺伝子の1018位塩基を含む部分DNA領域を特異的に増幅するように設計された核酸セットであって、1018位塩基がCであるグリコプロテインIb α 遺伝子において1018位塩基を含む部分DNA領域、に対して特異的にハイブリダイズするセンスプライマー及び／又は1018位塩基がTであるグリコプロテインIb α 遺伝子において1018位塩基を含む部分DNA領域、に対して特異的にハイブリダイズするセンスプライマーと、グリコプロテインIb α 遺伝子の一部領域に対して特異的にハイブリダイズするアンチセンスプライマーと、からなる核酸セット、

(14) パラオキシナーゼ遺伝子の584位塩基を含む部分DNA領域を特異的に増幅するように設計された核酸セットであって、584位塩基がGであるパラオキシナーゼ遺伝子において584位塩基を含む部分DNA領域、に対して特異的にハイブリダイズするセンスプライマー及び／又は584位塩基がAであるパラオキシナーゼ遺伝子において584位塩基を含む部分DNA領域、に対して特異的にハイブリダイズするセンスプライマーと、パラオキシナーゼ遺伝子の一部領域に対して特異的にハイブリダイズするアンチセンスプライマーと、からなる核酸セット、及び

(15) アポリポプロテインE遺伝子の4070位塩基を含む部分DNA領域を特異的に増幅するように設計された核酸セットであって、4070位塩基がCであるアポリポプロテインE遺伝子において4070位塩基を含む部分DNA領域、に対して特異的にハイブリダイズするセンスプライマー及び／又は4070位塩基がTであるアポリポプロテインE遺伝子において4070位塩基を含む部分DNA領域、に対して特異的にハイブリダイズするセンスプライマーと、アポリポプロテインE遺伝子の一部領域に対して特異的にハイブリダイズするアンチセンスプライマーと、からなる核酸セット。

以上では、(11)～(15)からなるグループから二つ以上の核酸セットを選択してキットを構成しているが、(11)～(15)の二つ以上を任意に選択してグループとし、かかるグループから二つ以上の核酸セットを選択してキットを構成してもよい。例えば、(11)、(12)、(14)及び(15)からなるグループ（後述の実施例においてオッズ比が1以上の多型を解析するための核酸セット）より二つ以上の核酸セットを選択してキットを構成したり、(11)、(12)及び(15)からなるグループ（後述の実施例においてオッズ比が上位3位までの多型を解析するための核酸セット）より二つ以上の核酸セットを選択してキットを構成することができる。

【 0 0 6 1 】

以下の核酸セットを含んでなる遺伝子型検出用キット、

アポリポプロテインE遺伝子の4070位塩基を含む部分DNA領域を特異的に増幅するように設計された核酸セットであって、4070位塩基がCであるアポリポプロテインE遺伝子において4070位塩基を含む部分DNA領域、に対して特異的にハイブリダイズするセンスプライマー及び／又は4070位塩基がTであるアポリポプロテインE遺伝子において4070位塩基を含む部分DNA領域、に対して特異的にハイブリダイズするセンスプライマーと、アポリポプロテインE遺伝子の一部領域に対して特異的にハイブリダイズするアンチセンスプライマーと、からなる核酸セット。

【 0 0 6 2 】

以下の(1)～(10)からなるグループより選択される二つ以上の核酸セットを含んでなる遺伝子型検出用キット、

(1)1019位塩基がCであるコネキシン37遺伝子のアンチセンス鎖において1019位塩基に対応する塩基を含む部分領域、に対して特異的にハイブリダイズし且つ第1の標識物質で標識された第1核酸と、1019位塩基がTであるコネキシン37遺伝子のアンチセンス鎖において1019位塩基に対応する塩基を含む部分領域、に対して特異的にハイブリダイズし且つ第2の標識物質で標識された第2核酸と、及びコネキシン37遺伝子のセンス鎖の一部領域に対して特異的にハイブリダイズし且つ前記第1核酸／又は前記第2核酸とともに使用されてコネキシン37遺伝子の1019位塩基を含む部分DNA領域を特異的に増幅することが可能な第3核酸と、からなる核酸セット、

(2)-863位塩基がCである腫瘍壊死因子 α 遺伝子のセンス鎖において-863位塩基を含む部分領域、に対して特異的にハイブリダイズし且つ第1の標識物質で標識された第1核酸と、-863位塩基がAである腫瘍壊死因子 α 遺伝子のセンス鎖において-863位塩基を含む部分領域、に対して特異的にハイブリダイズし且つ第2の標識物質で標識された第2核酸と、及び腫瘍壊死因子 α 遺伝子のアンチセンス鎖の一部領域に対して特異的にハイブリダイズし且つ前記第1核酸／又は前記第2核酸とともに使用されて腫瘍壊死因子 α 遺伝子の-863位塩基を含む部分DNA領域を特異的に増幅することが可能な第3核酸と、からなる核酸セット、

(3)242位塩基がCであるNADH/NADPHオキシダーゼp22フォックス遺伝子のセンス鎖において242位塩基を含む部分領域、に対して特異的にハイブリダイズし且つ第1の標識物質で標識された第1核酸と、242位塩基がTであるNADH/NADPHオキシダーゼp22フォックス遺伝子のセンス鎖において242位塩基を含む部分領域、に対して特異的にハイブリダイズし且つ第2の標識物質で標識された第2核酸と、及びNADH/NADPHオキシダーゼp22フォックス遺伝子のアンチセンス鎖の一部領域に対して特異的にハイブリダイズし且つ前記第1核酸／又は前記第2核酸とともに使用されてNADH/NADPHオキシダーゼp22フォックス遺伝子の242位塩基を含む部分DNA領域を特異的に増幅することが可能な第3核酸と、からなる核酸セット、

(4)-6位塩基がGであるアンギオテンシノーゲン遺伝子のセンス鎖において-6位塩基を含む部分領域、に対して特異的にハイブリダイズし且つ第1の標識物質で標識された第1核酸と、-6位塩基がAであるアンギオテンシノーゲン遺伝子のセンス鎖において-6位塩基を含む部分領域、に対して特異的にハイブリダイズし且つ第2の標識物質で標識された第2核酸と、及びアンギオテンシノーゲン遺伝子のアンチセンス鎖の一部領域に対して特異的にハイブリダイズし且つ前記第1核酸／又は前記第2核酸とともに使用されてアンギオテンシノーゲン遺伝子の-6位塩基を含む部分DNA領域を特異的に増幅することが可能な第3核酸と、からなる核酸セット、

(5)-219位塩基がGであるアポリポプロテインE遺伝子のアンチセンス鎖において-219位塩基に対応する塩基を含む部分領域、に対して特異的にハイブリダイズし且つ第1の標識物質で標識された第1核酸と、-219位塩基がTであるアポリポ

プロテインE遺伝子のアンチセンス鎖において-219位塩基に対応する塩基を含む部分領域、に対して特異的にハイブリダイズし且つ第2の標識物質で標識された第2核酸と、及びアポリポプロテインE遺伝子のセンス鎖の一部領域に対して特異的にハイブリダイズし且つ前記第1核酸／又は前記第2核酸とともに使用されてアポリポプロテインE遺伝子の-219位塩基を含む部分DNA領域を特異的に増幅することが可能な第3核酸と、からなる核酸セット、

(6)994位塩基がGである血小板活性化因子アセチルヒドロラーゼ遺伝子のアンチセンス鎖において994位塩基に対応する塩基を含む部分領域、に対して特異的にハイブリダイズし且つ第1の標識物質で標識された第1核酸と、994位塩基がTである血小板活性化因子アセチルヒドロラーゼ遺伝子のアンチセンス鎖において994位塩基に対応する塩基を含む部分領域、に対して特異的にハイブリダイズし且つ第2の標識物質で標識された第2核酸と、及び血小板活性化因子アセチルヒドロラーゼ遺伝子のセンス鎖の一部領域に対して特異的にハイブリダイズし且つ前記第1核酸／又は前記第2核酸とともに使用されて血小板活性化因子アセチルヒドロラーゼ遺伝子の994位塩基を含む部分DNA領域を特異的に増幅することが可能な第3核酸と、からなる核酸セット、

(7)-482位塩基がCであるアポリポプロテインC-III遺伝子のアンチセンス鎖において-482位塩基に対応する塩基を含む部分領域、に対して特異的にハイブリダイズする第1核酸と、-482位塩基がTであるアポリポプロテインC-III遺伝子のアンチセンス鎖において-482位塩基に対応する塩基を含む部分領域、に対して特異的にハイブリダイズする第2核酸と、アポリポプロテインC-III遺伝子のセンス鎖の一部領域に対して特異的にハイブリダイズし且つ前記第1核酸／又は前記第2核酸とともに使用されてアポリポプロテインC-III遺伝子の-482位塩基を含む部分DNA領域を特異的に増幅することが可能な第3核酸と、前記第1核酸及び前記第3核酸を用いて増幅された核酸に対して特異的にハイブリダイズする第4核酸と、並びに前記第2核酸及び前記第3核酸を用いて増幅された核酸に対して特異的にハイブリダイズする第5核酸と、からなる核酸セット、

(8)1186位塩基がGであるトロンボスポンジン4遺伝子のアンチセンス鎖において1186位塩基に対応する塩基を含む部分領域、に対して特異的にハイブリダイズ

し且つ第1の標識物質で標識された第1核酸と、1186位塩基がCであるトロンボスポンジン4遺伝子のアンチセンス鎖において1186位塩基に対応する塩基を含む部分領域、に対して特異的にハイブリダイズし且つ第2の標識物質で標識された第2核酸と、及びトロンボスポンジン4遺伝子のセンス鎖の一部領域に対して特異的にハイブリダイズし且つ前記第1核酸／又は前記第2核酸とともに使用されてトロンボスポンジン4遺伝子の1186位塩基を含む部分DNA領域を特異的に増幅することが可能な第3核酸と、からなる核酸セット、

(9)-819位塩基がTであるインターロイキン10遺伝子のアンチセンス鎖において-819位塩基に対応する塩基を含む部分領域、に対して特異的にハイブリダイズする第1核酸と、-819位塩基がCであるインターロイキン10遺伝子のアンチセンス鎖において-819位塩基に対応する塩基を含む部分領域、に対して特異的にハイブリダイズする第2核酸と、及びインターロイキン10遺伝子のセンス鎖の一部領域に対して特異的にハイブリダイズし且つ前記第1核酸／又は前記第2核酸とともに使用されてインターロイキン10遺伝子の-819位塩基を含む部分DNA領域を特異的に増幅することが可能な第3核酸と、前記第1核酸及び前記第3核酸を用いて増幅された核酸に対して特異的にハイブリダイズする第4核酸と、並びに前記第2核酸及び前記第3核酸を用いて増幅された核酸に対して特異的にハイブリダイズする第5核酸と、からなる核酸セット、及び

(10)-592位塩基がAであるインターロイキン10遺伝子のセンス鎖において-592位塩基を含む部分領域、に対して特異的にハイブリダイズし且つ第1の標識物質で標識された第1核酸と、-592位塩基がCであるインターロイキン10遺伝子のセンス鎖において-592位塩基を含む部分領域、に対して特異的にハイブリダイズし且つ第2の標識物質で標識された第2核酸と、及びインターロイキン10遺伝子のアンチセンス鎖の一部領域に対して特異的にハイブリダイズし且つ前記第1核酸／又は前記第2核酸とともに使用されてインターロイキン10遺伝子の-592位塩基を含む部分DNA領域を特異的に増幅することが可能な第3核酸と、からなる核酸セット。

以上では、(1)～(10)からなるグループから二つ以上の核酸セットを選択してキットを構成しているが、(1)～(10)の二つ以上を任意に選択してグループとし

、かかるグループから二つ以上の核酸セットを選択してキットを構成してもよい。例えば、(1)、(5)、(6)、(8)、(9)及び(10)からなるグループ（後述の実施例においてオッズ比が1以上の多型を解析するための核酸セット）より二つ以上の核酸セットを選択してキットを構成したり、(1)、(5)、(6)、(8)及び(9)からなるグループ（後述の実施例においてオッズ比が上位5位までの多型を解析するための核酸セット）より二つ以上の核酸セットを選択してキットを構成することができる。

【0063】

以下の(11)～(15)からなるグループより選択される二つ以上の核酸セットを含んでなる遺伝子型検出用キット、

(11)-1171位から3'方向にAが5個連続して存在するストロメライシン1遺伝子のアンチセンス鎖において該配列部分に対応する配列を含む部分領域、に対して特異的にハイブリダイズし且つ第1の標識物質で標識された第1核酸と、-1171位から3'方向にAが6個連続して存在するストロメライシン1遺伝子のアンチセンス鎖において該配列部分に対応する配列を含む部分領域、に対して特異的にハイブリダイズし且つ第2の標識物質で標識された第2核酸と、及びストロメライシン1遺伝子のセンス鎖の一部領域に対して特異的にハイブリダイズし且つ前記第1核酸／又は前記第2核酸とともに使用されてストロメライシン1遺伝子の-1171位における多型部分を含む部分DNA領域を特異的に増幅することが可能な第3核酸と、からなる核酸セット、

(12)プラスミノージェン活性化因子インヒビター1遺伝子の-668位における多型部分を含む部分DNA領域を特異的に増幅するように設計された一組の核酸（第1核酸及び第2核酸）と、-668位から3'方向にGが4個連続して存在するプラスミノージェン活性化因子インヒビター1遺伝子を鋳型とし且つ前記一組の核酸を用いて増幅される核酸に対して特異的にハイブリダイズする第3核酸と、及び-668位から3'方向にGが5個連続して存在するプラスミノージェン活性化因子インヒビター1遺伝子を鋳型とし且つ前記一組の核酸を用いて増幅される核酸に対して特異的にハイブリダイズする第4核酸と、からなる核酸セット、

(13)1018位塩基がCであるグリコプロテインIb α 遺伝子のアンチセンス鎖にお

いて1018位塩基に対応する塩基を含む部分領域、に対して特異的にハイブリダイズし且つ第1の標識物質で標識された第1核酸と、1018位塩基がTであるグリコプロテインIb α 遺伝子のアンチセンス鎖において1018位塩基に対応する塩基を含む部分領域、に対して特異的にハイブリダイズし且つ第2の標識物質で標識された第2核酸と、及びグリコプロテインIb α 遺伝子のセンス鎖の一部領域に対して特異的にハイブリダイズし且つ前記第1核酸／又は前記第2核酸とともに使用されてグリコプロテインIb α 遺伝子の1018位塩基を含む部分DNA領域を特異的に増幅することが可能な第3核酸と、からなる核酸セット、

(14)584位塩基がGであるパラオキシナーゼ遺伝子のアンチセンス鎖において584位塩基に対応する塩基を含む部分領域、に対して特異的にハイブリダイズし且つ第1の標識物質で標識された第1核酸と、584位塩基がAであるパラオキシナーゼ遺伝子のアンチセンス鎖において584位塩基に対応する塩基を含む部分領域、に対して特異的にハイブリダイズし且つ第2の標識物質で標識された第2核酸と、及びパラオキシナーゼ遺伝子のセンス鎖の一部領域に対して特異的にハイブリダイズし且つ前記第1核酸／又は前記第2核酸とともに使用されてパラオキシナーゼ遺伝子の584位塩基を含む部分DNA領域を特異的に増幅することが可能な第3核酸と、からなる核酸セット、及び

(15)4070位塩基がCであるアポリポプロテインE遺伝子のアンチセンス鎖において4070位塩基に対応する塩基を含む部分領域、に対して特異的にハイブリダイズし且つ第1の標識物質で標識された第1核酸と、4070位塩基がTであるアポリポプロテインE遺伝子のアンチセンス鎖において4070位塩基に対応する塩基を含む部分領域、に対して特異的にハイブリダイズし且つ第2の標識物質で標識された第2核酸と、及びアポリポプロテインE遺伝子のセンス鎖の一部領域に対して特異的にハイブリダイズし且つ前記第1核酸／又は前記第2核酸とともに使用されてアポリポプロテインE遺伝子の4070位塩基を含む部分DNA領域を特異的に増幅することが可能な第3核酸と、からなる核酸セット。

以上では、(11)～(15)からなるグループから二つ以上の核酸セットを選択してキットを構成しているが、(11)～(15)の二つ以上を任意に選択してグループとし、かかるグループから二つ以上の核酸セットを選択してキットを構成してもよい

。例えば、(11)、(12)、(14)及び(15)からなるグループ（後述の実施例においてオッズ比が1以上の多型を解析するための核酸セット）より二つ以上の核酸セットを選択してキットを構成したり、(11)、(12)及び(15)からなるグループ（後述の実施例においてオッズ比が上位3位までの多型を解析するための核酸セット）より二つ以上の核酸セットを選択してキットを構成することができる。

【0064】

以下の核酸セットを含んでなる遺伝子型検出用キット、

4070位塩基がCであるアポリポプロテインE遺伝子のアンチセンス鎖において4070位塩基に対応する塩基を含む部分領域、に対して特異的にハイブリダイズし且つ第1の標識物質で標識された第1核酸と、4070位塩基がTであるアポリポプロテインE遺伝子のアンチセンス鎖において4070位塩基に対応する塩基を含む部分領域、に対して特異的にハイブリダイズし且つ第2の標識物質で標識された第2核酸と、及びアポリポプロテインE遺伝子のセンス鎖の一部領域に対して特異的にハイブリダイズし且つ前記第1核酸／又は前記第2核酸とともに使用されてアポリポプロテインE遺伝子の4070位塩基を含む部分DNA領域を特異的に増幅することが可能な第3核酸と、からなる核酸セット。

【0065】

以上のキットにおいては、キットの使用方法に応じた一又は二以上の試薬（バッファー、反应用試薬、検出用試薬など）などを組み合わせてもよい。

以下、実施例を用いて本発明をより詳細に説明する。

【0066】

【実施例】

＜実施例1＞ 遺伝子多型の選択

PubMed[National Center for Biological Information (NCBI)], Online Mendelian inheritance in Men (NCBI), Single Nucleotide Polymorphism (NCBI)などの数種類の公的データベースを用いて、今までに報告された遺伝子の中から血管生物学、血小板・白血球生物学、凝固線溶系、脂質・糖・その他の代謝因子などの総合的側面から冠動脈硬化、冠動脈攣縮、高血圧、糖尿病、高脂血症などとの関連が推定される71遺伝子を抜粋した。さらにこれらの遺伝子に存在する多型

の中でプロモーター領域やエクソンに存在するもの、あるいはスプライスドナー部位やアクセプター部位に位置し、遺伝子産物の機能変化との関連が予想されるものを中心に112多型を選択した（図1及び図2）。

【0067】

＜実施例2＞ 遺伝子多型の決定

対象は日本人男女5061例（男性3309例、女性1752例）で、1994年7月から2001年12月の間に15参加施設に外来受診または入院した症例である。心筋梗塞は2819例（男性2003例、女性816例）で、全例に冠動脈造影および左室造影を行った。心筋梗塞の診断は典型的な心電図変化および血清CK、GOT、LDHの上昇により行った。さらに左室造影による壁運動異常およびそれに対応する左主幹動脈あるいは主要な冠動脈の狭窄により心筋梗塞の確定診断を行った。

【0068】

対照は2242例（男性1306例、女性936例）で、参加施設を受診し冠動脈疾患の従来の危険因子、即ち喫煙（1日10本以上）、肥満（body mass index $\geq 26 \text{ kg/m}^2$ ）、高血圧（収縮期血圧 $\geq 140 \text{ mmHg}$ または拡張期血圧 $\geq 90 \text{ mmHg}$ あるいはその両方）、糖尿病（空腹時血糖 $\geq 126 \text{ mg/dL}$ またはヘモグロビンA1c $\geq 6.5\%$ あるいはその両方）、高脂血症（血清総コレステロール $\geq 220 \text{ mg/dL}$ ）、高尿酸血症（男性では血清尿酸 $\geq 7.7 \text{ mg/dL}$ 、女性では血清尿酸 $\geq 5.5 \text{ mg/dL}$ ）の少なくとも一つを有するが冠動脈疾患を有しない症例である。これらの対照は安静時心電図が正常であり、運動負荷試験でも心筋虚血性変化は認められなかった。

【0069】

それぞれの対象から静脈血7 mLを50 mmol/L EDTA-2Naを含むチューブに採血し、ゲノムDNAをDNA抽出キット（Qiagen, Chatsworth, CA）を用いて抽出した。71候補遺伝子112多型の決定は蛍光・発光法によるアリル特異的プライマー・プローブ測定システム（東洋紡ジーンアナリシス、敦賀、日本）により行った（図3及び図4）。多型部位を含むDNA断片は5'末端にフルオレセインイソチオシアネート（fluorescein isothiocyanate: FITC）またはテキサスレッド（Texas red: TxR）で標識した2種類のアリル特異的センスプライマー（またはアンチセンスプライマー）と5'末端をビオチンで標識したアンチセンスプライマー（またはセ

ンスプライマー)を用いてpolymerase chain reaction (PCR)により増幅した。また別法として、多型部位を含むDNA断片は2種類のアリル特異的センスプライマーと5'末端をビオチンで標識したアンチセンスプライマーを用いて、またはセンスプライマーと5'末端をビオチンで標識したアンチセンスプライマーを用いてPCRにより増幅した。反応溶液 (25 μ L) には20 ngのDNA, 5 pmolの各プライマー, 0.2 mmol/Lの各デオキシヌクレオシド三リン酸 (dATP, dGTP, dCTP, dTTP), 1-4 mmol/LのMgCl₂, 1 UのDNAポリメラーゼ (rTaq or KODplus; 東洋紡、大阪、日本) を含み、それぞれのDNAポリメラーゼ緩衝液を用いた。増幅プロトコールは初期変性が95℃、5分; 35-45 cyclesで変性が95℃、30分、アニーリングが55-67.5℃で30秒、伸展が72℃で30秒、そして最終伸展を72℃で2分とした。

【0070】

蛍光法による遺伝子型の決定では、増幅したDNAを96穴プレートの各ウェルでストレプトアビジン結合磁気ビーズを含む溶液中で室温でインキュベートした。このプレートを磁気スタンド上に置き、各ウェルから上清を採取し、0.01 M NaOHを含む96穴プレートの各ウェルに移した後、マイクロプレートリーダーによりFITCは励起・蛍光波長が485と538 nm、TxRは励起・蛍光波長が584と612 nmで蛍光を測定した。また発光法による遺伝子型の決定では、増幅したDNAを0.3 M NaOHで変性させ、96穴プレートの各ウェルの底面に固定したいずれかのアリル特異的補足プローブと35-40%ホルムアミドを含むハイブリダイゼーション緩衝液で37℃、30分間ハイブリダイゼーションを行った。ウェルを十分に洗浄した後、アルカリフォスファターゼ結合ストレプトアビジンを各ウェルに加え、プレートを37℃で15分間振盪した。ウェルを再度洗浄し、0.8 mM 2-(4-iodophenyl)-3-(4-nitrophenyl)-5-(2,4-disulfophenyl)-2H-tetrazolium (monosodium salt)と0.4 mM 5-bromo-4-chloro-3-indolyl phosphate p-toluidine saltを含む溶液を加えた後、吸光度 450 nmを測定した。

【0071】

以上の方法による遺伝子型決定の精度を確認するために、50人のDNAサンプルを無作為に選びPCR-制限酵素断片長多型 (PCR-RFLP) 法またはPCR産物の直接塩基配列決定法を行った。いずれのサンプルにおいてもアリル特異的プライマー・

プローブ測定システムにより決定された遺伝子型はPCR-制限酵素断片長多型法またはDNA塩基配列決定法によって決定されたものと同一であった。

【0072】

尚、以下の関連解析における統計解析は次のように行った。まず、データは平均±標準偏差で表示した。臨床データは心筋梗塞患者と対照との間でunpaired Student's t test または Mann-Whitney U testを用いて比較した。3群間のデータはone-way analysis of variance またはKruskal-Wallis testならびに Scheffe's post-hoc testにより比較した。定性的データは chi-square testで検定した。アレル頻度は gene counting methodにより推定し、Hardy-Weinberg equilibriumから逸脱しているかどうかはchi-square test によって検定した。また、危険因子を補正した多因子ロジスティック回帰分析を行った。心筋梗塞は従属因子とし、年齢、body mass index (BMI)、喫煙状況(0=非喫煙,1=喫煙)、代謝因子(0=高血圧・糖尿病・高コレステロール血症・高尿酸血症の経歴なし、1 = 経歴あり)、それぞれの多型の遺伝子型を独立因子とした。それぞれの遺伝子型はdominant (優性), recessive (劣性), additive (付加) 遺伝モデルで解析し、P値、オッズ比、95%信頼区間(CI)を算出した。組み合わせ遺伝子型解析では、ロジスティック回帰分析のstepwise forward selection method によりそれぞれの遺伝子型についてのオッズ比を算出した。

【0073】

<実施例3> 心筋梗塞関連多型の選択、及び心筋梗塞診断方法の開発

最初に71遺伝子112多型に関するスクリーニング関連解析を男性451例(心筋梗塞219例、対照232例)、女性458例(心筋梗塞226例、対照232例)について行った。これらの症例は全体の5061例から無作為に選んだ。

以上の方法でスクリーニング関連解析を行った909例(男性451例、女性458例)の背景データを図5に示す。男性においては、年齢、BMI、および従来の冠動脈疾患の危険因子である喫煙、高血圧、糖尿病、高コレステロール血症、高尿酸血症などの頻度には心筋梗塞群と対照群との間に有意差を認めなかった。女性では、年齢、BMI、および高血圧、高コレステロール血症、高尿酸血症などの頻度には心筋梗塞群と対照群との間に有意差を認めなかったが、喫煙および糖尿病の

頻度は心筋梗塞群では対照群に比べ有意に高値であった。112多型と心筋梗塞とのスクリーニング関連解析において、年齢、BMI、および喫煙、高血圧、糖尿病、高コレステロール血症、高尿酸血症の頻度を補正した多因子ロジスティック回帰分析により男性で19個、女性で18個の一塩基多型（SNP）が心筋梗塞との関連を示した（図6）。尚、スクリーニング関連解析においてはロジスティック回帰分析において P 値 <0.1 の場合関連ありとするカテゴリーを用いた。これらのSNPの中で、4個のSNPが男女両方の心筋梗塞と関連し、他のSNPは男女いずれか一方の心筋梗塞と関連した。

【0074】

次に、これらの多型の遺伝子型を残りの4152例（男性心筋梗塞1784例、男性対照1074例、女性心筋梗塞590例、女性対照704例）について決定した。次に、これらの多型と心筋梗塞との関連についての大規模関連解析を合計5061例（男性心筋梗塞2003例、男性対照1306例、女性心筋梗塞816例、女性対照936例）において遂行した。

【0075】

大規模関連解析における全5061例（男性3309、女性1752例）の背景データを図7に示す。男性では、年齢、BMIおよび喫煙の頻度には心筋梗塞群と対照群との間に有意差を認めなかったが、高血圧、高尿酸血症は心筋梗塞群が対照群に比べて有意に低く、糖尿病と高コレステロール血症の頻度は心筋梗塞群が対照群に比べて有意に高かった。女性では、年齢および高血圧の頻度には心筋梗塞群と対照群との間に有意差を認めなかったが、BMIおよび喫煙、糖尿病、高コレステロール血症、高尿酸血症の頻度は心筋梗塞群が対照群に比べ有意に高かった。男性19 SNP、女性18 SNPと心筋梗塞との大規模関連解析において、年齢、BMI、および喫煙、高血圧、糖尿病、高コレステロール血症、高尿酸血症の頻度を補正した多因子ロジスティック回帰分析により男性で10個、女性で5個のSNPが心筋梗塞と有意な関連を示した（dominant または recessive 遺伝モデルのいずれかが $P<0.05$ ）（図8）。これらのSNPについての遺伝子型の分布およびロジスティック回帰分析の結果を図8と図9にそれぞれ示す。

【0076】

本実施例では多因子ロジスティック回帰分析のstepwise forward selection method を行った(図10)。この方法では、図9に示したそれぞれのSNPの心筋梗塞との関連におけるP値に基づいてdominant又はrecessive遺伝モデルを採用した。これらの遺伝子の染色体上の遺伝子座を図10に示す。インターロイキン10 (Interleukin-10) 遺伝子の-819T→C多型と-592A→C多型は連鎖不平衡にあった [pairwise linkage disequilibrium coefficient, D' (D/D_{\max}), of 0.406; standardized linkage disequilibrium coefficient, r , of 0.396; $P < 0.0001$, chi-square test]。腫瘍壊死因子 α (Tumor necrosis factor- α) 遺伝子と血小板活性化因子アセチルヒドロラーゼ (platelet-activating factor acetylhydrolase) 遺伝子の遺伝子座は近接しているが、両者の多型における遺伝子型の分布には関連を認めなかった。同様に、プラスミノゲン活性化因子インヒビター1 (plasminogen activator inhibitor-1) 遺伝子とparaoxonase 遺伝子の遺伝子座は近接しているが、両者の多型における遺伝子型の分布には関連を認めなかった。

【0077】

Stepwise forward selection methodにより算出した組み合わせ遺伝子型による心筋梗塞罹患のオッズ比を、男性は図11と図13(A)に、女性は図12と図13(B)に示す。男性では、5個のSNP(TSP4(1186G→C)多型、コネキシン37(1019C→T)多型、PAFアセチルヒドロラーゼ(994G→T)多型、アンギオテンシノーゲン(-66G→A)多型、腫瘍壊死因子 α (-863C→A)多型)の組み合わせ遺伝子型により、最大のオッズ比が4.50となった(図11、図13(A)参照)。さらに5個のSNP(NADH/NADPHオキシダーゼp22フォックス(242C→T)多型、アポE(-219G→T)多型、アポC-II(-482C→T)多型、IL-10(-819T→C)多型、IL-10(-592A→C)多型)を加え全部で10個のSNPとした場合には最大のオッズ比が11.26となった(図10と図13(A)参照)。女性では、5個のSNP(アポE(4070C→T)多型、グリコプロテインIb α (1018C→T)多型、ストロメライシン1(-1171/5A→6A)多型、PAI1(-668/4G→5G)多型、パラオキシナーゼ(584G→A)多型)の組み合わせ遺伝子型により、最大のオッズ比が88.51となった(図12と図13(B)参照)。

【0078】

以上のように、本発明者らは71候補遺伝子から選択した112多型と心筋梗塞との関連について検討し、5061例の大規模関連解析により心筋梗塞と関連するSNPを男性で10個、女性で5個同定した。さらに、多因子ロジスティック回帰分析のstepwise forward selection methodにより男性では最大オッズ比11.26、女性では最大オッズ比88.51を呈する心筋梗塞リスク診断方法（心筋梗塞の遺伝的リスク診断システム）を開発した。

【0079】

心筋梗塞の主な原因は動脈硬化性冠動脈疾患であり、これにより動脈内径の血行力学的な有意狭窄を生じ、血管の収縮拡張調節の異常を来し、動脈硬化巣の破裂や血栓形成を起こしやすくする。本発明者らは血管生物学、血小板・白血球生物学、凝固・線溶系、脂質・糖・その他の代謝因子などの包括的視点に基づいて71個の候補遺伝子を選択した。実際、心筋梗塞と関連した遺伝子群はその発症病態において多彩な役割を有していた。すなわち、血管生物学(connexin 37, NADH/NADPH oxidase p22 phox, and thrombospondin 4)、血管の炎症(tumor necrosis factor- α , platelet-activating factor acetylhydrolase, and interleukin-10)、高血圧(angiotensinogen)、脂質代謝(apolipoprotein E and C-III and paraoxonase)、血小板機能(glycoprotein Ib α)、基質代謝(stromelysin-1)、線溶系(PAI-1)などである(Boerma M, Forsberg L, van Zeijl L, et al. A genetic polymorphism in connexin 37 as a prognostic marker for atherosclerotic plaque development. J Intern Med 1999;246:211-218., Inoue N, Kawashima S, Kanazawa K, Yamada S, Akita H, Yokoyama M. Polymorphism of the NADH/NADPH oxidase p22 phox gene in patients with coronary artery disease. Circulation 1998;97:135-137., Topol EJ, McCarthy J, Gabriel S, et al. Single nucleotide polymorphisms in multiple novel thrombospondin genes may be associated with familial premature myocardial infarction. Circulation 2001;104:2641-2644., Skoog T, van' t Hooft FM, Kallin B, et al. A common functional polymorphism (C \rightarrow A substitution at position -863) in the promoter region of the tumor necrosis factor- α (TNF- α) gene associated with reduced circulating level of TNF- α . Hum Mol Genet 1999;8:1443-1449.

、Yamada Y, Ichihara S, Fujimura T, Yokota M. Identification of the G⁹⁹⁴→T missense mutation in exon 9 of the plasma platelet-activating factor acetylhydrolase gene as an independent risk factor for coronary artery disease in Japanese men. *Metabolism* 1998;47:177-181.、Koch W, Kastrati A, Bottiger C, Mehilli J, von Beckerath N, Schomig A. Interleukin-10 and tumor necrosis factor gene polymorphisms and risk of coronary artery disease and myocardial infarction. *Atherosclerosis* 2001;159:137-144.、Inoue I, Nakajima T, Williams CS, et al. A nucleotide substitution in the promoter of human angiotensinogen is associated with essential hypertension and affects basal transcription in vitro. *J Clin Invest* 1997;99:1786-1797.、Lambert J-C, Brousseau T, Defosse V, et al. Independent association of an APOE gene promoter polymorphism with increased risk of myocardial infarction and decreased APOE plasma concentrations—the ECTIM study. *Hum Mol Genet* 2000;9:57-61.、Eto M, Watanabe K, Makino I. Increased frequency of apolipoprotein epsilon 2 and epsilon 4 alleles in patients with ischemic heart disease. *Clin Genet* 1989;36:183-188.、Ruiz J, Blanche H, James RW, et al. Gln-Arg192 polymorphism of paraoxonase and coronary heart disease in type 2 diabetes. *Lancet* 1995;346:869-72.、Murata M, Matsubara Y, Kawano K, et al. Coronary artery disease and polymorphisms in a receptor mediating shear stress-dependent platelet activation. *Circulation* 1997;96:3281-3286.、Eriksson P, Kallin B, van' t Hooft FM, Bavenholm P, Hamsten A. Allele-specific increase in basal transcription of the plasminogen-activator inhibitor 1 gene is associated with myocardial infarction. *Proc Natl Acad Sci USA* 1995;92:1851-1855.、Ye S, Watts GF, Mandali S, Humphries SE, Henney AM. Preliminary report: genetic variation in the human stromelysin promoter is associated with progression of coronary atherosclerosis. *Br Heart J* 1995;73:209-215.)。本発明者らは112遺伝子多型を909例において検討し、さらに19個のSNPを男性2858例で、18個のSNPを女性1294例で検討した結果、合計で179,402個の遺伝子型を決定した。この遺伝子

型決定数は今まで報告された遺伝子多型の関連解析の中で最大のものである。以上の実施例で示された心筋梗塞リスク診断方法は最大オッズ比が男性で11.26、女性で88.51を呈し、これも今までに報告された大規模関連解析の中で最大のオッズ比である。

【0080】

心筋梗塞と関連した15個のSNPの中で、アポリポプロテインE (apolipoprotein E) 遺伝子の4070T→C (Arg158Cys)多型が女性の心筋梗塞リスクとして最大のオッズ比を示した。アポリポプロテインEはカイロミクロンと超低密度リポプロテイン (very low density lipoprotein: VLDL) レムナントの主要構成成分であり、肝臓での受容体によるこれらのリポタンパクの取り込みに際し、リガンドとして働く (Mahley RW. Apolipoprotein E: cholesterol transport protein with expanding role in cell biology. Science 1998;240:622-630.)。アポリポプロテインE遺伝子の158Cys (ϵ 2)アリルはレムナントリポタンパクの肝臓の受容体への結合異常を来し (Schneider WJ, Kovanen PT, Brown MS, et al. Familial dysbetalipoproteinemia. Abnormal binding of mutant apolipoprotein E to low density lipoprotein receptors of human fibroblasts and membranes from liver and adrenal of rats, rabbits, and cows. J Clin Invest 1981;68:1075-1085.)、血漿からの除去の遅延を生ずる (Gregg RE, Zech LA, Schaefer EJ, Brewer HB Jr. Type III hyperlipoproteinemia: defective metabolism of an abnormal apolipoprotein E. Science 1981;211:584-586.)。家族性dysbetalipoproteinemia (FD, またはIII型高リポタンパク血症)患者の多くは、Arg158Cys多型のホモ接合体である (Breslow JL, Zannis VI, SanGiacomo TR, Third JL, Tracy T, Glueck CJ. Studies of familial type III hyperlipoproteinemia using as a genetic marker the apo E phenotype E2/2. J Lipid Res 1982;23:1224-1235.)。しかし、158Cys/Cysホモ接合体のうち わずか1~4%しか家族性dysbetalipoproteinemiaを発症しないことから、他の遺伝因子あるいは環境因子が本疾患の発症に必要であると思われる。家族性dysbetalipoproteinemia患者における動脈硬化性レムナントリポタンパク (β -VLDL) の血漿中への蓄積 (Mahley RW. Apolipoprotein E: cholesterol transport protein with expanding role

e in cell biology. Science 1998;240:622-630.) あるいはヒト158Cys/Cysを過剰発現したマウス (Sullivan PM, Mezdour H, Quarfordt SH, Maeda N. Type II I hyperlipoproteinemia and spontaneous atherosclerosis in mice resulting from gene replacement of mouse Apoe with human APOE*2. J Clin Invest 1998;102:130-135.) は、動脈硬化の進展促進が認められる。Etoらは $\epsilon 2$ (158Cys) アリルが日本人の男性(オッズ比 2.44, $\epsilon 2$ allele 対 $\epsilon 3/\epsilon 3$ 型) および女性(オッズ比 3.03)で冠動脈疾患と関連することを報告した (Eto M, Watanabe K, Makino I. Increased frequency of apolipoprotein epsilon 2 and epsilon 4 alleles in patients with ischemic heart disease. Clin Genet 1989;36:183-188.)。TT 型 (158Cys/Cys) が心筋梗塞罹患の危険因子となるという本発明者らの結果は、Etoらの結果と一致する。

【0081】

以上の実施例で検討したSNPのいくつかは、その近傍に存在する心筋梗塞発症と真に関連する遺伝子のSNPと連鎖不平衡にある可能性がある。しかしながら、男性で9個、女性で5個の遺伝子が日本人の心筋梗塞感受性遺伝子座であることが示された。さらに、組み合わせ遺伝子型により信頼性および予知確率の高いリスク診断が可能になった。このことから、本発明の診断方法は心筋梗塞の一次予防および中高年者の生活の質の改善ならびに医療費の削減に貢献できることが期待される。

【0082】

この発明は、上記発明の実施の形態及び実施例の説明に何ら限定されるものではない。特許請求の範囲の記載を逸脱せず、当業者が容易に想到できる範囲で種々の変形態様もこの発明に含まれる。

【0083】

【発明の効果】

本発明によれば心筋梗塞に関連する遺伝子多型が解析され、核酸試料の遺伝子型が検出される。この遺伝子型の検出によって得られる多型情報を用いることにより、高精度で予知確率の高い心筋梗塞のリスク診断を行うことができる。したがって、本発明は心筋梗塞の発症リスクを事前に知る有効な手段となる。また、

本発明によればこれらの疾患の診断に有用な補助的情報が得られ、より適切な治療を可能とし予後の改善などを図ることができる。更に本発明は、心筋梗塞の発症メカニズムを解明する上での有効な情報を提供し、心筋梗塞の予防、治療へ貢献することが期待される。

【 0 0 8 4 】

以下、次の事項を開示する。

1 1. 以下の工程(a1)を含んでなる、核酸試料の遺伝子型を検出する方法、

(a1) 核酸試料における、以下の(1)～(10)の多型を解析する工程、

- (1) コネキシン37遺伝子の塩基番号1019位の多型、
- (2) 腫瘍壊死因子 α 遺伝子の塩基番号-863位の多型、
- (3) NADH/NADPHオキシダーゼp22フォックス遺伝子の塩基番号242位の多型、
- (4) アンギオテンシノーゲン遺伝子の塩基番号-6位の多型、
- (5) アポリポプロテインE遺伝子の塩基番号-219位の多型、
- (6) 血小板活性化因子アセチルヒドロラーゼ遺伝子の塩基番号994位の多型、
- (7) アポリポプロテインC-III遺伝子の塩基番号-482位の多型、
- (8) トロンボスポンジン4遺伝子の塩基番号1186位の多型、
- (9) インターロイキン10遺伝子の塩基番号-819位の多型、及び
- (10) インターロイキン10遺伝子の塩基番号-592位の多型。

1 2. 以下の工程(b1)を含んでなる、核酸試料の遺伝子型を検出する方法、

(b1) 核酸試料における、以下の(11)～(15)の多型を解析する工程、

- (11) ストロメライシン1遺伝子の塩基番号-1171位の多型、
- (12) プラスミノーゲン活性化因子インヒビター1遺伝子の塩基番号-668位の

多型、

- (13) グリコプロテインIb α 遺伝子の塩基番号1018位の多型、
- (14) パラオキシナーゼ遺伝子の塩基番号584位の多型、及び
- (15) アポリポプロテインE遺伝子の塩基番号4070位の多型。

1 3. 以下の工程(I)～(III)を含んでなる、心筋梗塞のリスク診断方法、

(I) 核酸試料における、以下の(1)～(10)の多型を解析する工程、

- (1) コネキシン37遺伝子の塩基番号1019位の多型、

- (2)腫瘍壊死因子 α 遺伝子の塩基番号-863位の多型、
- (3)NADH/NADPHオキシダーゼp22フォックス遺伝子の塩基番号242位の多型、
- (4)アンギオテンシノーゲン遺伝子の塩基番号-6位の多型、
- (5)アポリポプロテインE遺伝子の塩基番号-219位の多型、
- (6)血小板活性化因子アセチルヒドロラーゼ遺伝子の塩基番号994位の多型、
- (7)アポリポプロテインC-III遺伝子の塩基番号-482位の多型、
- (8)トロンボスポンジン4遺伝子の塩基番号1186位の多型、
- (9)インターロイキン10遺伝子の塩基番号-819位の多型、及び
- (10)インターロイキン10遺伝子の塩基番号-592位の多型、

(II)前記工程によって得られる多型情報から核酸試料の遺伝子型を決定する工程、及び

(III)決定された遺伝子型から心筋梗塞の遺伝的リスクを求める工程。

14. 以下の工程(IV)～(VI)を含んでなる、心筋梗塞のリスク診断方法、

(IV)核酸試料における、以下の(11)～(15)の多型を解析する工程、

(11)ストロメライン1遺伝子の塩基番号-1171位の多型、

(12)プラスミノゲン活性化因子インヒビター1遺伝子の塩基番号-668位の

多型、

(13)グリコプロテインIb α 遺伝子の塩基番号1018位の多型、

(14)パラオキシナーゼ遺伝子の塩基番号584位の多型、及び

(15)アポリポプロテインE遺伝子の塩基番号4070位の多型、

(V)前記工程によって得られる多型情報から核酸試料の遺伝子型を決定する工程、及び

(VI)決定された遺伝子型から心筋梗塞の遺伝的リスクを求める工程。

【0085】

【配列表】

SEQUENCE LISTING

<110> NAGOYA INDUSTRIAL SCIENCE RESEARCH INSTITUTE

Gifu International Institute of Biotechnology

<120> A method for diagnosing myocardial infarction risk

<130> 15snp

<140>

<141>

<160> 64

<170> PatentIn Ver. 2.1

<210> 1

<211> 1601

<212> DNA

<213> Homo sapiens

<400> 1

ctccggccat cgtccccacc tccacctggg cgcgccgcga ggcagcggac ggaggccggg 60
agccatgggt gactggggct tcctggagaa gttgctggac caggtccagg agcactcgac 120
cgtggtgggt aagatctggc tgacggtgct cttcatcttc cgcatacctca tcctgggcct 180
ggccggcgag tcagtgtggg gtgacgagca gtcagatttc gagtgttaaca cggcccagcc 240
aggctgcacc aacgtctgct atgaccaggc cttccccatc tcccacatcc gctactgggt 300
gctgcagttc ctcttcgtca gcacacccac cctgggtctac ctgggccatg tcatttacct 360
gtctcggcga gaagagcggc tgcggcagaa ggagggggag ctgcgggcac tgccggccaa 420
ggaccacag gtggagcggg cgctggcggc cgtagagcgt cagatggcca agatctcggt 480
ggcagaagat ggtcgcctgc gcataccgcg agcactgatg ggcacctatg tcgccagtgt 540
gctctgcaag agtgtgctag aggcaggctt cctctatggc cagtggcgcc tgtacggctg 600
gaccatggag cccgtgtttg tgtgccagcg agcacctgc ccctacctcg tggactgctt 660
tgtctctcgc ccacaggaga agaccatctt catcatcttc atgttggtgg ttggactcat 720
ctccctgggtg cttaacctgc tggagttggt gcacctgctg tgtcgctgcc tcagccgggg 780
gatgagggca cggcaaggcc aagacgcacc cccgaccag ggcacctcct cagaccctta 840
cacggaccag gtcttcttct acctccccgt gggccagggg ccctcatccc caccatgccc 900
cacctacaat gggctctcat ccagtgagca gaactgggcc aacctgacca cagaggagag 960
gttggcgtct tccaggcccc ctctcttcct ggaccacccc cctcagaatg gccaaaaacc 1020
cccaagtcgt cccagcagct ctgcttctaa gaagcagtat gtatagaggc ctgtggctta 1080
tgtcacccaa cagaggggtc ctgagaagtc tggctgcctg ggatgcccc tgccccctcc 1140

tggaaggctc tgcagagatg actgggctgg ggaagcagat gcttgctggc catggagcct 1200
 cattgcaagt tgttcttgaa cacctgaggc cttcctgtgg cccaccaggc actacggctt 1260
 cctctccaga tgtgctttgc ctgagcacag acagtcagca tggaatgctc ttggccaagg 1320
 gtactggggc cctctggcct tttgcagctg atccagagga acccagagcc aacttaccct 1380
 aacctacccc tatggaacag tcacctgtgc gcaggttgct ctcaaaccct ctcttcacag 1440
 gaaaaggcgg attgaggctg ctgggtcagc cttgatcgca cagacagagc ttgtgccgga 1500
 tttggccctg tcaaggggac tgggtgcctg ttttcatcac tccttcctag ttctactgtt 1560
 caagcttctg aaataaacag gacttgatca caaaaaaaaa a 1601

<210> 2

<211> 1178

<212> DNA

<213> Homo sapiens

<400> 2

ggggaagcaa aggagaagct gagaagatga aggaaaagtc agggctctgga ggggcggggg 60
 tcaggagagct cctgggagat atggccacat gtagcggctc tgaggaaatgg gttacaggag 120
 acctctgggg agatgtgacc acagcaatgg gtaggagaat gtccagggtc atggaagtcg 180
 agtatcgggg accccccctt aacgaagaca gggccatgta gagggcccca gggagtga 240
 ggcctccag gacctccagg tatggaatac aggggacgtt taagaagata tggccacaca 300
 ctggggccct gagaagtga agcttcatga aaaaaatcag ggacccaga gticcttgga 360
 agccaagact gaaaccagca ttatgagtct ccgggtcaga atgaaagaag aaggcctgcc 420
 ccagtgtct gtgaattccc ggggtgatt tcactccccg ggctgtcca ggctgtccc 480
 tgctaccccc acccagcctt tcctgaggcc tcaagctgcc accaagcccc cagctcctc 540
 tccccgcaga cccaaacaca ggcctcagga ctcaacacag cttttccctc caacccgtt 600
 ttctctccct caaggactca gctttctgaa gcccctccca gttctagttc tatcttttc 660
 ctgcatcctg tctggaagtt agaaggaaac agaccacaga cctgggtccc aaaagaaatg 720
 gaggcaatag gttttgaggg gcatggggac ggggttcagc ctccagggtc ctacacacaa 780
 atcagtcagt ggcccagaag acccccctcg gaatcggagc agggaggatg gggagtgtga 840
 ggggtatcct tgatgcttgt gtgtcccaa ctttccaaat nccgcccc gcgatggaga 900

agaaaccgag acagaagggtg cagggcccccac taccgcttcc tccagatgag cttatgggtt 960
 tctccaccaa ggaagtittc cgctggttga atgattcttt ccccgccctc ctctcgcccc 1020
 agggacatat aaaggcagtt gttggcacac ccagccagca gacgctccct cagcaaggac 1080
 agcagaggac cagctaagag ggagagaagc aactgcagac cccccctgaa aacaaccctc 1140
 agacgccaca tcccctgaca agctgccagg caggttct 1178

<210> 3

<211> 971

<212> DNA

<213> Homo sapiens

<400> 3

ccaggctgca gtgcagtggg gcagctgtga ctcatggcag cctccacctg gctcaggcca 60
 ccctcttacc tcagcctctg gagtagctgg gaccacaggc acacaccact gcacctgggt 120
 tttaaatfff ttgtagagat gagggctctca ctatgttgcc caggctgggc tcaaactcct 180
 gggctccagt gatcctcccg cctcagcctc caaaaatgct gggattccag gcatgagcca 240
 ccgtgctcgg gccctctct gtgtgtgttt cagtaaaggg agttccctgt ggcccctcag 300
 gctgagctgg gctgttcctt aaccacatgg cticagtgtg gcgggcgtgt ttgtgtgcct 360
 gctggagtac ccccggggga agaggaagaa gggctccacc atggagcgct ggtgagtctc 420
 ctccctgatct ggggtctctc cgggggctgc ggggcccagg cagggtcac agggttgggt 480
 ggagcttggg ttctcacttg gaggtcccg aaccaaccct ttggtgcttg tgggtaaacc 540
 aaggccggtg cctgcccggg gtgttttgtg ggaggaaaga ggcctgggtg ccctgggggtg 600
 gtcagcaggg cagcaaagga gtcccgagtg ggagaggccc agccgcgcgg tctcgccctc 660
 ctccctcccc caggggacag aagtacatga ccgccgtggg gaagctgttc gggcccttta 720
 ccaggaatta ctatgttcgg gccgtcctgc atctcctgtg agtccccgtc ccgcaccccc 780
 tctagggctc aggagggtt ggagccgacc ctccccactg tcccaccggc cgggctgcct 840
 ggacaggagc cccccccact tacctcagtg tttttccaaa caaaaattcg ggtccctggc 900
 tctggcaggg cctgtgtctg ctgtctagtg tgcaggattt gtaaggatcc actccaaatc 960
 cgaggagctc g 971

<210> 4

<211> 1278

<212> DNA

<213> Homo sapiens

<400> 4

ccagacaagt gatttttgag gagtcctat ctataggaac aaagtaatta aaaaaatgta 60
tttcagaatt tacaggccca tgtgagatat gatttttta aatgaagatt tagagtaatg 120
ggtaaaaaag aggtatttgt gtgtttgttg attgttcagt cagtgaatgt acagcttctg 180
cctcatatcc aggcaccatc tcttcctgct cttgtttgtt aaatgttcca ttcctgggta 240
atttcatgtc tgccatcgtg gatatgccgt ggctccttga acctgcttgt gttgaagcag 300
gatcttcctt cctgtccctt cagtgcccta ataccatgta ttaaggctg gacacatcac 360
cactcccaac ctgcctcacc cactgcgtca cttgtgatca ctggcttctg gcgactctca 420
ccaaggtctc tgtcatgccc tgttataacg actacaaaag caagtcttac ctataggaaa 480
ataagaatta taaccctttt actggtcattg tgaaacttac catttgcaat ttgtacagca 540
taaacacaga acagcacatc tttcaatgcc tgcctcctga aggcattttg tttgtgtctt 600
tcaatctggc tgtgctattg ttgggtgttta acagtctccc cagctacact ggaaacttcc 660
agaaggcact tttcacttgc ttgtgtgttt tccccagtgt ctattagagg cctttgcaca 720
gggtaggctc tttggagcag ctgaaggcca cacatcccat gagcgggcag cagggtcaga 780
agtggccccc gtgttgccca agcaagactc tcccctgccc tctgccctct gcacctcgg 840
cctgcatgtc cctgtggcct cttgggggta catctcccgg ggctgggtca gaaggcctgg 900
gtggttggcc tcaggctgtc acacacctag ggagatgtc ccgtttctgg gaaccttggc 960
cccgaactct gcaaacttgc gtaaattgtg aactcgacc tgcaccggct cactctgttc 1020
agcagtgaac ctctgcatcg atcactaaga cttcctggaa gaggtcccag cgtgagtgtc 1080
gttcttggca tctgtccttc tggccagcct gtggcttggc caagtgatgt aacctcctc 1140
tccagcctgt gcacaggcag cctgggaaca gctccatccc caccctcag ctataaatag 1200
ggcctcgtga cccggccagg ggaagaagct gccgttgttc tgggtactac agcagaaggt 1260
aagccggggg cccctca 1278

<210> 5

<211> 1426

<212> DNA

<213> Homo sapiens

<400> 5

caaggtcaca cagctggcaa ctggcagagc caggattcac gccctggcaa ttgactcca 60
gaatcctaac ctttaaccag aagcacggct tcaagcccct ggaaaccaca atacctgtgg 120
cagccagggg gaggtgctgg aatctcattt cacatgtggg gagggggctc ccctgtgctc 180
aaggtcacaa ccaaagagga agctgtgatt aaaaccagg tcccatttgc aaagcctcga 240
cttttagcag gtgcatcata ctgttccac ccttccatc ccacttctgt ccagccgcct 300
agccccactt tctttttttt ctttttttga gacagtctcc ctcttgctga ggctggagtg 360
cagtggcgag atctcgctc actgtaacct ccgcctcccg ggttcaagcg attctcctgc 420
ctcagcctcc caagtagcta ggattacagg cggccgccac cagcctggc taacttttgt 480
atttttagta gagatggggt ttcacatgt tggccaggct ggtctcaaac tctgacctt 540
aagtgattcg ccactgtgg cctcccaaag tgctgggatt acaggcgtga gctaccgccc 600
ccagccccctc ccattccact tctgtccagc cccctagccc tactttcttt ctgggatcca 660
ggagtccaga tccccagccc cctctccaga ttacattcat ccaggcacag gaaaggacag 720
ggtcaggaaa ggaggactct gggcggcagc ctccacattc cccttccacg cttggcccc 780
agaatggagg aggggtgtctg tattactggg cgaggtgtcc tcccttcctg gggactgtgg 840
gggggtgtca aaagacctct atgccccacc tcttctctc ctctgccctg ctgtgcctgg 900
ggcaggggga gaacagccca cctcgtgact gggggctggc ccagcccgc ctatccctgg 960
gggagggggc gggacagggg gagccctata attggacaag tctgggatcc ttgagtccta 1020
ctcagcccca gcggaggtga aggacgtcct tccccaggag ccggtgagaa gcgcagtcgg 1080
gggcacgggg atgagctcag gggcctctag aaagagctgg gaccctggga agccctggcc 1140
tccaggtagt ctcaggagag ctactcgggg tcgggcttgg ggagaggagg agcgggggtg 1200
aggcaagcag caggggactg gacctgggaa gggctgggca gcagagacga cccgacccgc 1260
tagaagggtg ggtggggaga gcagctggac tgggatgtaa gccatagcag gactccacga 1320
gttgtcacta tcatttatcg agcacctact ggggtgtccc agtgtcctca gatctccata 1380
actggggagc caggggcagc gacacggtag ctagccgtcg attgga 1426

<210> 6

<211> 1505

<212> DNA

<213> Homo sapiens

<400> 6

gctggtcgga ggctcgcagt gctgtcggcg agaagcagtc gggtttggag cgcttgggtc 60
gcgttggtgc gcggtggaac gcgcccaggg accccagttc ccgcgagcag ctccgcgccg 120
cgcctgagag actaagctga aactgctgct cagctcccaa gatggtgcc a ccaaattgc 180
atgtgctttt ctgcctctgc ggctgcctgg ctgtggttta tccttttgac tggcaataca 240
taaactcctgt tgcccatatg aaatcatcag catgggtcaa caaaatacaa gtactgatgg 300
ctgctgcaag ctttggccaa actaaaatcc cccggggaaa tgggccttat tccgttggtt 360
gtacagactt aatgtttgat cacactaata agggcacctt cttgcgttta tattatccat 420
cccaagataa tgatcgcctt gacacccttt ggatcccaa taaagaatat tttgggggtc 480
ttagcaaatt tcttgaaca cactggctta tgggcaacat tttgaggta ctctttggtt 540
caatgacaac tcctgcaaac tggaattccc ctctgaggcc tggtgaaaaa tatccacttg 600
ttgttttttc tcatggtctt ggggcattca ggacacttta ttctgctatt ggcatgacc 660
tggcatctca tgggtttata gttgctgctg tagaacacag agatagatct gcatctgcaa 720
cttactatit caaggaccaa tctgctgcag aaatagggga caagtcttgg ctctacctta 780
gaaccctgaa acaagaggag gagacacata tacgaaatga gcaggtagcg caaagagcaa 840
aagaatgttc ccaagctctc agtctgattc ttgacattga tcatggaaag ccagtgaaga 900
atgcattaga tttaaagttt gatatggaac aactgaagga ctctattgat agggaaaaaa 960
tagcagtaat tggacattct tttggtggag caacggttat tcagactctt agtgaagatc 1020
agagattcag atgtggtatt gccctggatg catggatgtt tccactgggt gatgaagtat 1080
attccagaat tcctcagccc ctctttttta tcaactctga atatttccaa tatcctgcta 1140
atatcataaa aatgaaaaaa tgctactcac ctgataaaga aagaaagatg attacatca 1200
ggggttcagt ccaccagaat tttgctgact tcacttttgc aactggcaaa ataattggac 1260
acatgctcaa attaaaggga gacatagatt caaatgtagc tattgatctt agcaacaaag 1320
cttcattagc attcttacia aagcatttag gacttcataa agattttgat cagtgggact 1380
gcttgattga aggagatgat gagaatctta ttccaggag caacattaac acaaccaatc 1440

aacacatcat gttacagaac tcttcaggaa tagagaaata caattaggat taaaataggt 1500
 ttttt 1505

<210> 7

<211> 1419

<212> DNA

<213> Homo sapiens

<400> 7

gaattctgag ggcagagcgg gccactttct aggctctga tttcatactg tgggtgtagt 60
 tacttctgag aggacagctt gctgccagag ctctatTTTT tatgtagag gtccttctg 120
 cctgcagact ctgctgtctg ggaagggcac agcgtagga gggagaggga ggtgtgagtc 180
 cctccgtgga cccgctgctt tgtacttctc tatctcatTT cttttcagc accactctgg 240
 gaaatcagta ttccagcccc attttatcct cagaaaattg aggctctgag atgttatctc 300
 tgtgacctgg gtcctattac gtgccaaagg catcatTTaa gcctaagatg tcctggctcc 360
 aagggtgcag catctggaag acaggcgcct catcctgcca tccctgctgc ggcttcaactg 420
 tggcccaggg gacatctcag cccgagaagg tcagcggccc cctcctggac caccgactcc 480
 ccgcagaact cctctgtgcc ctctcctcac cagacctgtt tctcccagt tgctcccaca 540
 gccagggggc agtgagggct gctcttcccc cagccccact gaggaacca ggaaggtgaa 600
 cgagagaatc agtcctgggtg ggggctgggg agggccccag acatgagacc agtcctccc 660
 ccaggggatg ttatcagtgg gtccagaggg caaataggg agcctgggtg agggaggggc 720
 aaaggcctcg ggctctgagc ggcttggcc ttctccacca accctccct acactcaggg 780
 ggaggcggcg gtggggcaca cagggtgggg ggcggtggc gggctgctgg gtgagcagca 840
 ctgcctgcc tggattgaaa ccagagatg gaggtgctgg gaggggctgt gagagctcag 900
 ccctgtaacc aggcttggc ggagccactg atgcccgtc ttctgtgcct ttactccaaa 960
 catccccag cccaagccac ccacttgctc tcaagtctga agaagaagtc cctcaccct 1020
 ctactccagg ctgtgttcag ggcttggggc tggtagggg aggggcctga aattccagt 1080
 tgaaaggctg agatgccga gcccctggcc tatgtccaag ccatttcccc tctctacca 1140
 gcctctccct ggggagccag tcagctagga aggaatgagg gctccccagg cccaccccca 1200
 gttcctgagc tcacttgggc tgcagggtg gcgggacagc agcgtggact cagtctccta.1260

gggatttccc aactctcccg cccgcttgct gcatctggac accctgcctc aggccctcat 1320
ctccactggt cagcaggtga ctttgccca gcgccctggg tcctcagtg ctagctgccct 1380
ggagatgata taaaacaggt cagaaccctc ctgcctgtc 1419

<210> 8

<211> 3074

<212> DNA

<213> Homo sapiens

<400> 8

gaattccggg gagcaggaag agccaacatg ctggccccgc gcggagccgc cgtcctcctg 60
ctgcacctgg tcctgcagcg gtggctagcg gcaggcgccc aggccacccc ccaggtcttt 120
gaccttctcc catcttccag tcagaggcta aaccacaggcg ctctgctgcc agtcctgaca 180
gaccccgccc tgaatgatct ctatgtgatt tccacctca agctgcagac taaaagttca 240
gccaccatct tcggtcttta ctcttcaact gacaacagta aatattttga atttactgtg 300
atgggacgct taagcaaagc catcctccgt tacctgaaga acgatgggaa ggtgcatttg 360
gtggttttca acaacctgca gctggcagac ggaaggcggc acaggatcct cctgaggctg 420
agcaatttgc agcgaggggc cggctcccta gagctctacc tggactgcat ccaggtggat 480
tccgttcaca atctccccag ggcctttgct ggccccctcc agaaacctga gaccattgaa 540
ttgaggactt tccagaggaa gccacaggac ttcttggaag agctgaagct ggtggtgaga 600
ggctcactgt tccaggtggc cagcctgcaa gactgcttcc tgcagcagag tgagccactg 660
gctgccacag gcacagggga cttaaccgg cagtcttgg gtcaaatgac acaattaaac 720
caactcctgg gagaggtgaa ggaccttctg agacagcagg ttaaggaaac atcatttttg 780
cgaaacacca tagctgaatg ccaggcttgc ggtcctctca agtttcagtc tccgacccca 840
agcacggtgg tcgccccggc tccccctgca ccgccaacac gccacctcg tcggtgtgac 900
tccaacccat gtttccgagg tgtccaatgt accgacagta gagatggctt ccagtgtggg 960
ccctgccccg agggctacac aggaaacggg atcacctgta ttgatgttga tgagtgcaaa 1020
taccatccct gctaccggg cgtgcactgc ataaatttgt ctcttggtt cagatgtgac 1080
gcctgcccag tgggcttcac agggcccatg gtgcagggtg ttgggatcag ttttgccaag 1140
tcaaacaagc aggtctgcac tgacattgat gagtgtcgaa atggagcgtg cgttcccaac 1200

tcgatctgcg ttaatacttt gggatcttac cgctgtgggc cttgtaagcc ggggtatact 1260
 ggtgatcaga taaggggatg caaagtggaa agaaactgca gaaaccaga gctgaaccct 1320
 tgcagtgtga atgcccagtg cattgaagag aggcaggggg atgtgacatg tgtgtgtgga 1380
 gtcggttggg ctggagatgg ctatatctgt ggaaaggatg tggacatcga cagttacccc 1440
 gacgaagaac tgccatgctc tgccaggaac tgtaaaaagg acaactgcaa atatgtgcca 1500
 aattctggcc aagaagatgc agacagagat ggcatgtggc acgcttgtga cgaggatgct 1560
 gacggagatg ggatcctgaa tgagcaggat aactgtgtcc tgattcataa tgtggaccaa 1620
 aggaacagcg ataaagatat ctttggggat gcctgtgata actgcctgag tgtcttaaat 1680
 aacgaccaga aagacaccga tggggatgga agaggagatg cctgtgatga tgacatggat 1740
 ggagatggaa taaaaaacat tctggacaac tgcccaaat ttccaatcg tgaccaacgg 1800
 gacaaggatg gtgatgggtg gggggatgcc tgtgacagtt gtcctgatgt cagcaaccct 1860
 aaccagtctg atgtggataa tgatctggtt ggggactcct gtgacaccaa tcaggacagt 1920
 gatggagatg ggcaccagga cagcacagac aactgcccc cgtcattaa cagtgccag 1980
 ctggacaccg ataaggatgg aattggtgac gagtgtgatg atgatgatga caatgatggt 2040
 atcccagacc tgggtgcccc tggaccagac aactgccggc tgggtcccaa cccagcccag 2100
 gaggatagca acagcgacgg agtgggagac atctgtgagt ctgactttga ccaggaccag 2160
 gtcacgatc ggatcgacgt ctgccagag aacgcagagg tcaccctgac cgacttcagg 2220
 gcttaccaga ccgtgggcct ggatcctgaa ggggatgcc agatcgatcc caactgggtg 2280
 gtcctgaacc agggcatgga gattgtacag accatgaaca gtgatcctgg cctggcagt 2340
 gggtagacag cttttaatgg agttgacttc gaaggacct tccatgtgaa taccagaca 2400
 gatgatgact atgcaggctt tatctttggc taccaagata gctccagctt ctacgtggtc 2460
 atgtggaagc agacggagca gacatattgg caagccaccc cattccgagc agttgcagaa 2520
 cctggcattc agctcaaggc tgtgaagtct aagacaggtc caggggagca tctccggaac 2580
 tccctgtggc acacggggga caccagtgc caggtcaggc tgctgtggaa ggactccagg 2640
 aatgtgggct ggaaggacaa ggtgtcctac cgctggttcc tacagcacag gccccagg 2700
 ggctacatca gggtagatt ttatgaaggc tctgagttgg tggctgactc tggcgtcacc 2760
 atagacacca caatgcgtgg aggccgactt ggcgttttct gcttctctca agaaaacatc 2820
 atctggtcca acctcaagta tcgctgcaat gacaccatcc ctgaggactt ccaagagttt 2880
 caaaccaga atttcgaccg cttcgataat taaaccaagg aagcaatctg taactgcttt 2940

tcggaacact aaaaccatat atattttaac ttcaattttc tttagctttt accaacccaa 3000
 atatatcaaa acgttttatg tgaatgtggc aataaaggag aagagatcat ttttaaaaaa 3060
 aaaaaaaaaa aaaa 3074

<210> 9

<211> 1327

<212> DNA

<213> Homo sapiens

<400> 9

gatccccaga gactttccag atatctgaag aagtcctgat gtcactgccc cggtccttcc 60
 ccaggtagag caacactcct cgtcgcaacc caactggctc cccttacctt ctacacacac 120
 acacacacac acacacacac acacacacac acacacaaat ccaagacaac actactaagg 180
 cttctttggg agggggaagt agggataggt aagaggaaag taagggacct cctatccagc 240
 ctccatggaa tcctgacttc ttttccttgt tatttcaact tcttccacce catcttttaa 300
 actttagact ccagccacag aagcttacaa ctaaaagaaa ctctaaggcc aatttaatcc 360
 aaggtttcat tctatgtgct ggagatgggt tacagtaggg tgaggaaacc aaattctcag 420
 ttggcactgg tgtacccttg tacaggatgat gtaacatctc tgtgcctcag ttgctcact 480
 ataaaataga gacggtaggg gtcattggtga gcactacctg actagcatat aagaagcttt 540
 cagcaagtgc agactactct taccacttc cccaagcac agttgggggtg ggggacagct 600
 gaagagggtg aaacatgtgc ctgagaatcc taatgaaatc ggggttaaagg agcctggaac 660
 acatcctgtg accccgcctg tcctgtagga agccagtctc tggaaagtaa aatggaaggg 720
 ctgcttggga actttgagga tatttagccc accccctcat ttttacttgg ggaaactaag 780
 gcccagagac ctaaggtagc tgcctaagtt agcaaggaga agtcttgggt attcatccca 840
 ggttgggggg acccaattat ttctcaatcc cattgtattc tggaatgggc aatttgtcca 900
 cgtcactgtg acctaggaac acgcgaatga gaaccacag ctgagggcct ctgcgcacag 960
 aacagctgtt ctccccagga aatcaacttt ttttaattga gaagctaaaa aattattcta 1020
 agagaggtag cccatcctaa aaatagctgt aatgcagaag ttcattgttca accaatcatt 1080
 tttgcttacg atgcaaaaat tgaaaactaa gtttattaga gaggttagag aaggaggagc 1140
 tctaagcaga aaaaatcctg tgccgggaaa ccttgattgt ggctttttta tgaatgaaga 1200

ggcctccctg agcttacaat ataaaagggg gacagagagg tgaaggtcta cacatcaggg 1260
 gcttgctctt gcaaaaccaa accacaagac agacttgcaa aagaaggcat gcacagctca 1320
 gcactgc 1327

<210> 10

<211> 2376

<212> DNA

<213> Homo sapiens

<400> 10

tctagaaatg tctgcatgat ttttgattt tttgactttt aatttacctg tttgacattt 60
 gctatgagcc tttcactcat aactaatata ttatttagtt ctctaagtaa tttttggta 120
 cctactatat atcagatacc atgctaagta ctaggaatac agaatcaaag gaggcattgt 180
 ccataccctc aagtagctta cattagaatg agagagacag ataaaccatt tcactacagt 240
 tcagtgtgga aaatagagta gcagaggcag gtacaaggta ccattgaaca atgattaatg 300
 actcttcctg ggacttggga aacatcttcc aggggaagtcg tcgaagctgt tttaaaatat 360
 agcaaacttt tgtatttagt tcaggaacag catggcccat tttgccaatc acatcttaac 420
 agttggaaaa gcaaacatat tatctatcag gctttcctct aaactttaaa -tatgttttat 480
 aagttataac tccagagaaa atttacaag gataaacctt aatatagaag gaattagagc 540
 tgccacagct tctacacttt taacctctca atattttatc tgttgggctc cactgtttct 600
 tcctggaatt cacatcactg ccaccactct gttctccttg tctcatatc aatgtggcca 660
 aatattttcc ctgtatttca atcaggacaa gacatggttt tttccccca tcaaaggaat 720
 ggagaacatc agaatactag ttttaaatg tctttaggcc aggtgccgtg acccatgtct 780
 gtaatcctag cactttgaga ggttgaggca ggagaatcac ttgatcccag agctcgaaac 840
 cagcctgggc aacatagtga aacctctgtc tctatttttt aaataaaatt tgaaaaagtc 900
 tttagacata atctagtcta aaaatgaagg cttaaattgt atgtatagcc ccctgccaag 960
 tggctatcac ctgtgtgggc atcttcagtc atagggatct tattgccaca gagaaatccc 1020
 tttaaactta ttgggtaaaa tctctccaat gtttattaag aaacacacaa aaaataaagc 1080
 aaagaagaaa atgcaaaaga gttataaatg agaggaagca aaatgggcac ttattaaagg 1140
 tctaataaat gcacatttgt atccatcatt ctactgagtt cttactccca agatgttctt 1200

cccttttagca aacaaataag caagtcagca aagaaagaaa gaacaaacaa aatgtggtga 1260
 tcaggggaagc attgaggaga tggatggtgg caggtggcaa gaggactata aaagttttac 1320
 aaaatgtctt cctctgaata tgttttagagt cttgcattca agcatttatt atacaccaat 1380
 aatgtgagca acactttact tgacaaagaa acagaaaaga aaggaaagga agaaaacaga 1440
 agagcatgaa gagaaaattt aggatggatt ctgtttctca acttcaaagc atctgctaatt 1500
 ttgaatttag ggaggagggg aaaaggttga aagagaataa gacatgtgta gaagacaagg 1560
 acagagagaa tttcagtccg gtaagcaatg taattcattt caattctaca actatttatg 1620
 gagcagctac gtgggcccat caccattaa taaattggtt acagaattaa aaccaacca 1680
 aagggaatat acttccttct tttcacaga cctctttgt tctattctgc ccatgagggtt 1740
 ttctctctca agaaccagca aatccaacga cagtcaatag caggcattac aaatcagatt 1800
 cagaaaaata aatcacccct tctaaatttc ttctagatat tatcttttat gttttgagta 1860
 taattgtata tagtatagac tatagctatg tatgtacact ttccacttac atcttttatt 1920
 tgcttttata atgtctttct taaaataaaa ctgcttttag aagtcttgca caattctgat 1980
 ttttaccaag tcaacctact tcttctctca aaaggacaaa cataaattgt ctagtgaatt 2040
 ccagtcaatt ttccagaag aaaaaaatg ctccagtttt ctctctacc aagacaggaa 2100
 gcacttctg gagattaatc actgtgttg cttgcaaat tggaagggtt gagagaaatt 2160
 agtaaagtag gttgtatcat cctacttga atttggaatg ttggaaatg gtcctgctgc 2220
 catttgatg aaagcaagga tgagtcaagc tgcgggtgat ccaaacaac actgtcactc 2280
 tttaaagct gcgctcccga ggttgacct acaaggaggc aggcaagaca gcaaggcata 2340
 gagacaacat agagctaagt aaagccagt gaaatg 2376

<210> 11

<211> 959

<212> DNA

<213> Homo sapiens

<400> 11

aagcttttac catggttaacc cctgggtccc ttcagccacc accacccac ccagcacacc 60
 tccaacctca gccagacaag gttgttgaca caagagagcc ctgaggggca cagagagagt 120
 ctggacacgt gggggagtca gccgtgtatc atcgaggcg gccgggcaca tggcagggat 180

gagggaaaga ccaagagtcc tctgttgggc ccaagtccta gacagacaaa acctagacaa 240
 tcacgtggct ggctgcatgc cctgtggctg ttgggctggg cccaggagga gggaggggcg 300
 ctctttccig gaggtggtcc agagcaccgg gtggacagcc ctgggggaaa acttccacgt 360
 ttigtatggag gttatctttg ataactccac agtgacctgg ttcgccaaag gaaaagcagg 420
 caaacgtgag ctgtttttt tttctccaag ctgaacacta ggggtcctag gctttttggg 480
 tcacccggca tggcagacag tcaacctggc aggacatccg ggagagacag acacaggcag 540
 agggcagaaa ggtcaaggga ggttctcagg ccaaggctat tggggtttgc tcaattgttc 600
 ctgaatgctc ttacacacgt acacacacag agcagcacac acacacacac acacatgcct 660
 cagcaagtcc cagagaggga ggtgtcgagg gggacccgct ggctgttcag acggactccc 720
 agagccagtg agtgggtggg gctggaacat gagtccatct atttctgccc cacatctggt 780
 ataaaaggag gcagtggccc acagaggagc acagctgtgt ttggctgcag ggccaagagc 840
 gctgtcaaga agaccacac gccccctcc agcagctgaa ttctgcagc tcagcagccg 900
 ccgccagagc aggacgaacc gccaatcgca aggcacctct gagaacttca ggtaggaga 959

<210> 12

<211> 2480

<212> DNA

<213> Homo sapiens

<400> 12

gacgctctgt gccttcggag gtctttctgc ctgcctgtcc tcatgcctct cctcctcttg 60
 ctgctcctgc tgccaagccc ctacacccc caccatct gtgaggtctc caaagtggcc 120
 agccacctag aagtgaactg tgacaagagg aatctgacag cgctgcctcc agacctgccg 180
 aaagacacaa ccattctcca cctgagttag aacctcctgt acactttctc cctggcaacc 240
 ctgatgcctt acactgcct cactcagctg aacctagata ggtgcgagct caccaagctc 300
 caggctgatg ggacgctgcc agtgcctggg accctggatc tatccacaa tcagctgcaa 360
 agcctgccct tgctagggca gacactgcct gctctaccg tcctggacgt ctcttcaac 420
 cggctgacct cgctgcctct tgggtccctg cgtggtcttg gcgaactcca agagctctac 480
 ctgaaaggca atgagctgaa gacctgccc ccagggtccc tgacgccac acccaagctg 540
 gagaagctca gtctggctaa caacaactg actgagctcc ccgctgggct cctgaatggg 600

ctggagaatc tcgacaccct tctcctccaa gagaactcgc tgtatacaat accaaagggc 660
 ttttttgggt cccacctcct gccttttgct tttctccacg ggaacccctg gttatgcaac 720
 tgtgagatcc tctattttcg tcgctggctg caggacaatg ctgaaaatgt ctacgtatgg 780
 aagcaaggtg tggacgtcaa ggccatgacc tctaactggt ccagtgtgca gtgtgacaat 840
 tcagacaagt ttcccgctca caaataccca ggaaaggggt gccccaccct tggatgatgaa 900
 ggtgacacag acctatatga ttactaccca gaagaggaca ctgagggcga taaggtgcgt 960
 gccacaagga ctgtggtcaa gtccccacc aaagcccata caaccccctg gggctctattc 1020
 tactcatggt ccaactgcttc tctagacagc caaatgccct cctccttgca tccaacacaa 1080
 gaatccacta aggagcagac cacattccca cctagatgga ccccaaattt cacacttcac 1140
 atggaatcca tcacattctc caaaactcca aaatccacta ctgaaccaac cccaagcccg 1200
 accacctcag agcccgctcc ggagcccgcc ccaaacatga ccaccctgga gccactcca 1260
 agcccgacca cccagagcc cacctcagag cccgccccca gcccgaccac cccggagccc 1320
 accccaatcc cgaccatcgc cacaagcccg accatcctgg tgtctgccac aagcctgatc 1380
 actccaaaaa gcacattttt aactaccaca aaaccggtat cactcttaga atccacaaa 1440
 aaaaccatcc ctgaacttga tcagccacca aagctccgtg gggctgctca agggcatttg 1500
 gagagctcca gaaatgacc tttctccac cccgactttt gctgcctcct cccctgggc 1560
 ttctatgtct tgggtctctt ctggctgctc ttgctctg tggtcctcat cctgctgctg 1620
 agctggggtg ggcatgtgaa accacaggcc ctggactctg gccaaagtgc tgctctgacc 1680
 acagccacac aaaccacaca cctggagctg cagaggggac ggcaagtgc agtgccccgg 1740
 gcctggctgc tcttccttcg aggttcgctt cccactttcc gctccagcct cttcctgtgg 1800
 gtacggccta atggccgtgt ggggcctcta gtggcaggaa ggaggccctc agctctgagt 1860
 cagggtcgtg gtcaggacct gctgagcaca gtgagcatta ggtactctgg ccacagcctc 1920
 tgagggtggg aggtttggg accttgagag aagagcctgt gggctctcct attggaatct 1980
 agttgggggt tggaggggta aggaacacag ggtgataggg gaggggtctt agttcctttt 2040
 tctgtatcag aagccctgtc ttcacaacac aggcacacaa tttcagtccc agccaaagca 2100
 gaaggggtaa tgacatggac ttggcggggg gacaagacaa agctcccgat gctgcatggg 2160
 gcgctgccag atctcacggt gaaccatttt ggcagaatac agcatggttc ccacatgcat 2220
 ttatgcacag aagaaaatct ggaaagtgat ttatcaggat gtgagcactc gttgtgtctg 2280
 gatgttacia atatgggtgg tttattttc ttttccctg tttagcattt tctagttttc 2340

ttatcaggat gtgagcactc gttgtgtctg gatgttacaa atatgggtgg ttttattttc 2400
 tttttccctg ttttagcattt tctagttttc cactattatt gtatattatc tgtataataa 2460
 aaaataattt tagggttggg 2480

<210> 13

<211> 1337

<212> DNA

<213> Homo sapiens

<400> 13

cccccgacca tggcgaagct gattgcgctc accctcttgg ggatgggact ggcactcttc 60
 aggaaccacc agtcttctta ccaaacacga cttaatgctc tccgagaggt acaaccgta 120
 gaacttccta actgtaattt agttaagga atcgaaactg gctctgaaga catggagata 180
 ctgcctaata gactggcttt cattagctct ggattaaagt atcctggaat aaagagcttc 240
 aacccaaca gtcctggaaa aatacttctg atggacctga atgaagaaga tccaacagt 300
 ttggaattgg ggatcactgg aagtaaattt gatgtatctt catttaacc tcatgggatt 360
 agcacattca cagatgaaga taatgccatg tacctcctgg tggatgaacca tccagatgcc 420
 aagtccacag tggagttggt taaatttcaa gaagaagaaa aatcgctttt gcatctaaaa 480
 accatcagac ataaacttct gcctaatttg aatgatattg ttgctgtggg acctgagcac 540
 ttttatggca caaatgatca ctattttctt gaccctact tacaatcctg ggagatgtat 600
 ttgggttttag cgtggtcgta tgttgtctac tatagtccaa gtgaagttcg agtgggtggca 660
 gaaggatttg attttgctaa tggaatcaac atttaccgg atggcaagta tgtctatata 720
 gctgagttgc tggctcataa gattcatgtg tatgaaaagc atgctaattg gactttaact 780
 ccattgaagt cccttgactt taataccctc gtggataaca tatctgtgga tcctgagaca 840
 ggagaccttt ggggttggatg ccatccaat ggcatgaaaa tcttcttcta tgactcagag 900
 aatcctcctg catcagaggt gcttcgaatc cagaacattc taacagaaga acctaaagt 960
 acacaggttt atgcagaaaa tggcacagtg ttgcaaggca gtacagttgc ctctgtgtac 1020
 aaagggaac tgctgattgg cacagtgtt cacaagctc tttactgtga gctctaacag 1080
 accgatttgc acctatgcca tagaaactga ggccattatt tcaaccgctt gccatattcc 1140
 gaggaccag tgttcttagc tgaacaatga atgctgacct taaatgtgga catcatgaag 1200

catcaaagca ctgtttaact gggagtata tgatgtgtag ggctttttt tgagaatata 1260
ctatcaaate agtcttgga tacttgaaaa cctcatttac cataaaaate cttctacta 1320
aaatggataa atcagtt 1337

<210> 14

<211> 5515

<212> DNA

<213> Homo sapiens

<400> 14

ggaacttgat gctcagagag gacaagtcac ttgcccaagg tcacacagct ggcaactggc 60
agacgagatt cagccctgg caatttgact ccagaatcct aacctaacc cagaagcacg 120
gcttcaagcc ctggaaacca caatacctgt ggcagccagg gggaggtgct ggaatctcat 180
ttcacatgtg gggagggggc tcctgtgctc aaggtcacaa ccaaagagga agctgtgatt 240
aaaaccagg tcccatttgc aaagcctcga ctttttagcag gtgcatcata ctgttccac 300
ccctcccatc ccacttctgt ccagccgcct agccccactt tctttttttt ctttttttga 360
gacagtctcc ctcttgctga ggctggagtg cagtggcgag atctcggtc actgtaacct 420
ccgcctcccg ggttcaagcg attctcctgc ctcagcctcc caagtagcta ggattacagg 480
cgcccgccac cagcctggc taacttttgt attttttagta gagatgggtt ttccatgt 540
tgccaggct ggtctcaaac tcctgacctt aagtgttcg cccactgtgg cctcccaaag 600
tgctgggatt acaggcgtga gctaccgccc ccagccctc ccatccact tctgtccagc 660
cccctagccc tactttcttt ctgggatcca ggagtcaga tcccagccc cctctccaga 720
ttacattcat ccaggcacag gaaaggacag ggtcaggaaa ggaggactct gggcggcagc 780
ctccacattc ccctccacg ctggccccc agaattggagg aggggtgtctg tattactggg 840
cgagggtgtc tcccttctg gggactgtg ggggtgtca aaagacctt atgccccacc 900
tccttctcc ctctgccctg ctgtgcctgg ggcaggggga gaacagccca cctcgtgact 960
gggtgcccga gcccgcccta tccctggggg agggggcggg acagggggag ccctataatt 1020
ggacaagtct gggatccttg agtcctactc agccccagcg gaggtgaagg acgtccttcc 1080
ccaggagccg gtgagaagcg cagtcggggg cacggggatg agtcagggg cctctagaaa 1140
gagctgggac cctgggaagc cctggcctcc aggtagtctc aggagagcta ctcggggtcg 1200

ggcttgggga gaggaggagc gggggtgagg caagcagcag gggactggac ctgggaaggg 1260
 ctgggcagca gagacgaccc gacccgctag aaggtggggt ggggagagca gctggactgg 1320
 gatgtaagcc atagcaggac tccacgagtt gtcactatca ttatcgagca cctactgggt 1380
 gtccccagtg tcctcagatc tccataactg gggagccagg ggcagcgaca cggtagctag 1440
 ccgtcgattg gagaacttta aaatgaggac tgaattagct cataaatgga acacggcgct 1500
 taactgtgag gttggagctt agaatgtgaa gggagaatga ggaatgcgag actgggactg 1560
 agatggaacc ggcggtgggg agggggtggg gggatggaat ttgaaccccg ggagaggaag 1620
 atggaatfff ctatggaggc cgacctgggg atggggagat aagagaagac caggagggag 1680
 ttaaataggg aatgggttgg gggcggcttg gtaaattgtc tgggattagg ctgttgacga 1740
 taatgcaaca aggcttggaa ggctaacctg gggtagggcc gggttggggg cgctgggggt 1800
 gggaggagtc ctcactggcg gttgattgac agtttctcct tcccagact ggccaatcac 1860
 aggcaggaag atgaaggttc tgtgggctgc gttgctggc acattcctgg caggtatggg 1920
 ggcggggctt gctcggttcc ccccgctcct cccctctca tcctcacctc aacctcctgg 1980
 cccattcag acagaccctg ggccccctct tctgaggctt ctgtgctgct tcctggctct 2040
 gaacagcgat ttgacgctct ctgggcctcg gtttcccca tccttgagat aggagttaga 2100
 agttgttttg ttgttgttgt ttgttgtgtg tgtttgttt ttttgagatg aagtctcgct 2160
 ctgtcgccca ggctggagtg cagtggcggg atctcggtc actgcaagct ccgcctccca 2220
 ggtccacgcc attctcctgc ctcagcctcc caagtagctg ggactacagg cacatgccac 2280
 cacaccgac taactttttt gtattttcag tagagacggg gtttcacat gttggccagg 2340
 ctggtctgga actcctgacc tcaggtgatc tgcccgtttc gatctccca agtgctggga 2400
 ttacaggcgt gagccaccgc acctggctgg gagttagagg tttctaagc attgcaggca 2460
 gatagtgaat accagacacg gggcagctgt gatctttatt ctccatcac cccacacagc 2520
 cctgcctggg gcacacaagg acactcaata catgcttttc cgctgggccc gtggctcacc 2580
 cctgtaatcc cagcactttg ggaggccaag gtgggaggat cacttgagcc caggagtcca 2640
 acaccagcct gggcaacata gtgagaccct gtcttacta aaaatacaaa aattagccag 2700
 gcatggtgcc acacacctgt gctctcagct actcaggagg ctgaggcagg aggatcgctt 2760
 gagcccagaa ggtcaagggt gcagtgaacc atgttcaggc cgctgcactc cagcctgggt 2820
 gacagagcaa gacctgttt ataaatacat aatgctttcc aagtgattaa accgactccc 2880
 ccctcacctt gccaccatg gtcctaaaga agcatttgtg gagcaccttc tgtgtgcccc 2940

taggtagcta gatgcctgga cggggtcaga aggaccctga cccgaccttg aacttgttcc 3000
acacaggatg ccaggccaag gtggagcaag cgggtggagac agagccggag cccgagctgc 3060
gccagcagac cgagtggcag agcggccagc gctgggaact ggcactgggt cgcttttggg 3120
attacctgcg ctgggtgcag aactgtctg agcaggtgca ggaggagctg ctcagctccc 3180
aggtcaccca ggaactgagg tgagtgtccc catcctggcc cttgaccctc ctggtgggcg 3240
gctatacctc cccaggtcca ggtttcatc tgcccctgtc gctaagtctt ggggggcctg 3300
ggtctctgct ggttctagct tcctcttccc atttctgact cctggcttta gctctctgga 3360
attctctctc tcagctttgt ctctctctct tcccttctga ctcagtctct cacactcgtc 3420
ctggctctgt ctctgtcctt ccctagctct tttatataga gacagagaga tggggtctca 3480
ctgtgttgcc caggctggtc ttgaacttct gggctcaagc gatcctcccg cctcggcctc 3540
ccaaagtgtt gggattagag gcatgagcac cttgcccggc ctcctagctc cttcttcgtc 3600
tctgcctctg ccctctgcat ctgctctctg catctgtctc tgtctccttc tctcggcctc 3660
tgccccgttc cttctctccc tcttgggtct ctctggctca tccccatctc gcccgcccca 3720
tcccagccct tctccccgc ctcctcactg tgcgacaccc tcccgcctc tcggccgcag 3780
ggcgctgatg gacgagacca tgaaggagtt gaaggcctac aaatcggaac tggaggaaca 3840
actgaccccg gtggcggagg agacgcgggc acggctgtcc aaggagctgc aggcggcgca 3900
ggcccggctg ggcgcggaca tggaggacgt gcgcggccgc ctggtgcagt accgcggcga 3960
ggtgcaggcc atgctcggcc agagcaccga ggagctgcgg gtgcgcctcg cctccacct 4020
gcgcaagctg cgtaagcggc tcctccgcga tgccgatgac ctgcagaagc gcctggcagt 4080
gtaccaggcc ggggcccgcg agggcgccga gcgcggcctc agcgccatcc gcgagcgcct 4140
ggggcccctg gtggaacagg gccgcgtgcg ggccgccact gtgggctccc tggccggcca 4200
gccgctacag gagcgggccc aggccctggg cgagcggctg cgcgcgcgga tggaggagat 4260
gggcagccgg acccgcgacc gcctggacga ggtgaaggag caggtggcgg aggtgcgcgc 4320
caagctggag gagcaggccc agcagatacg cctgcaggcc gaggccttcc aggccccct 4380
caagagctgg ttcgagcccc tgggtgaaga catgcagcg cagtgggccc ggctgggtga 4440
gaaggtgcag gctgccgtgg gcaccagcgc cggccctgtg cccagcgaca atcactgaac 4500
gccgaagcct gcagccatgc gacccacgc caccctgtc ctcctgcctc cgcgagcct 4560
gcagcgggag accctgtccc cggcccagcc gtcctcctgg ggtggaccct agtttaataa 4620
agattcacca agtttcacgc atctgtggc ctccccctgt gatttcctct aagccccagc 4680

ctcagtttct ctttctgccc acatactgcc acacaattct cagccccctc ctctccatct 4740
 gtgtctgtgt gtatctttct ctctgccctt ttttttttt tagacggagt ctggctctgt 4800
 caccaggtct agagtgcagt ggcacgatct tggctcactg caacctctgc ctcttgggtt 4860
 caagcgattc tgctgcctca gtagctggga ttacaggctc acaccaccac acccggttaa 4920
 tttttgtatt tttagtagag acgagctttc accatgttgg ccaggcaggt ctcaaactcc 4980
 tgaccaagtg atccaccgc cggcctccca aagtgtctgag attacaggcc tgagccacca 5040
 tgcccggcct ctgcccctct ttctttttta gggggcaggg aaaggtctca ccctgtcacc 5100
 cgccatcaca gctcactgca gccctcacct cctggactca agtgataagt gatcctcccg 5160
 cctcagcctt tccagtagct gagactacag gcgcatacca ctaggattaa tttggggggg 5220
 ggtggtgtgt gtggagatgg ggtctggctt tgttggccag gctgatgtgg aattcctggg 5280
 ctcaagcgt actccacct tggcctcctg agtagctgag actactggct agcaccacca 5340
 caccagctt tttattatta tttgtagaga caaggctca atatgttgcc caggctagtc 5400
 tcaaaccctt ggctcaagag atcctccgcc atcggcctcc caaagtgtg ggattccagg 5460
 catgggctcc gagcggcctg cccaacttaa taatattgtt cctagagttg cactc 5515

<210> 15

<211> 19

<212> DNA

<213> Artificial Sequence

<220>

<223> Description of Artificial Sequence:Primer

<400> 15

ctcagaatgg ccaaaaancc 19

<210> 16

<211> 20

<212> DNA

<213> Artificial Sequence

<220>

<223> Description of Artificial Sequence:Primer

<400> 16

cctcagaatg gccaaaantc 20

<210> 17

<211> 18

<212> DNA

<213> Artificial Sequence

<220>

<223> Description of Artificial Sequence:Primer

<400> 17

gcagagctgc tgggacga 18

<210> 18

<211> 20

<212> DNA

<213> Artificial Sequence

<220>

<223> Description of Artificial Sequence:Primer

<400> 18

ggccctgtct tcgttaangg 20

<210> 19

<211> 22

<212> DNA

<213> Artificial Sequence

<220>

<223> Description of Artificial Sequence:Primer

<400> 19

atggccctgt cttcggttaan tg 22

<210> 20

<211> 24

<212> DNA

<213> Artificial Sequence

<220>

<223> Description of Artificial Sequence:Primer

<400> 20

ccagggctat ggaagtcgag tatc 24

<210> 21

<211> 18

<212> DNA

<213> Artificial Sequence

<220>

<223> Description of Artificial Sequence:Primer

<400> 21

accacggcgg tcatgngc 18

<210> 22

<211> 18

<212> DNA

<213> Artificial Sequence

<220>

<223> Description of Artificial Sequence:Primer

<400> 22

accacggcgg tcatgnac 18

<210> 23

<211> 20

<212> DNA

<213> Artificial Sequence

<220>

<223> Description of Artificial Sequence:Primer

<400> 23

gcagcaaagg agtcccgagt 20

<210> 24

<211> 18

<212> DNA

<213> Artificial Sequence

<220>

<223> Description of Artificial Sequence:Primer

<400> 24

cggcagcttc ttccncg 18

<210> 25

<211> 18

<212> DNA

<213> Artificial Sequence

<220>

<223> Description of Artificial Sequence:Primer

<400> 25

cggcagcttc ttccntg 18

<210> 26

<211> 22

<212> DNA

<213> Artificial Sequence

<220>

<223> Description of Artificial Sequence:Primer

<400> 26

ccacccctca gctataaata gg 22

<210> 27

<211> 21

<212> DNA

<213> Artificial Sequence

<220>

<223> Description of Artificial Sequence:Primer

<400> 27

gaatggagga ggggtgtctng a 21

<210> 28

<211> 22

<212> DNA

<213> Artificial Sequence

<220>

<223> Description of Artificial Sequence:Primer

<400> 28

agaatggagg aggggtgtctn ta 22

<210> 29

<211> 20

<212> DNA

<213> Artificial Sequence

<220>

<223> Description of Artificial Sequence:Primer

<400> 29

ccaggaaggg aggacacctc 20

<210> 30

<211> 21

<212> DNA

<213> Artificial Sequence

<220>

<223> Description of Artificial Sequence:Primer

<400> 30

ttcttttggg ggagcaacng t 21

<210> 31

<211> 22

<212> DNA

<213> Artificial Sequence

<220>

<223> Description of Artificial Sequence:Primer

<400> 31

attcttttgg tggagcaacn tt 22

<210> 32

<211> 24

<212> DNA

<213> Artificial Sequence

<220>

<223> Description of Artificial Sequence:Primer

<400> 32

tcttacctga atctctgac ttca 24

<210> 33

<211> 18

<212> DNA

<213> Artificial Sequence

<220>

<223> Description of Artificial Sequence:Primer

<400> 33

cggagccact gatgcncg 18

<210> 34

<211> 18

<212> DNA

<213> Artificial Sequence

<220>

<223> Description of Artificial Sequence:Primer

<400> 34

cggagccact gatgcntg 18

<210> 35

<211> 22

<212> DNA

<213> Artificial Sequence

<220>

<223> Description of Artificial Sequence:Primer

<400> 35

tgtttgagat aaaggcacag aa 22

<210> 36

<211> 19

<212> DNA

<213> Artificial Sequence

<220>

<223> Description of Artificial Sequence:Primer

<400> 36

cgagttggga acgcacnct 19

<210> 37

<211> 19

<212> DNA

<213> Artificial Sequence

<220>

<223> Description of Artificial Sequence:Primer

<400> 37

cgagttggga acgcacngt 19

<210> 38

<211> 22

<212> DNA

<213> Artificial Sequence

<220>

<223> Description of Artificial Sequence:Primer

<400> 38

ggtctgcact gacattgatg ag 22

<210> 39

<211> 24

<212> DNA

<213> Artificial Sequence

<220>

<223> Description of Artificial Sequence:Primer

<400> 39

tacccttgta caggtgatgt anta 24

<210> 40

<211> 24

<212> DNA

<213> Artificial Sequence

<220>

<223> Description of Artificial Sequence:Primer

<400> 40

tacccttgta caggtgatgt anca 24

<210> 41

<211> 22

<212> DNA

<213> Artificial Sequence

<220>

<223> Description of Artificial Sequence:Primer

<400> 41

atagtgagca aactgaggca ca 22

<210> 42

<211> 22

<212> DNA

<213> Artificial Sequence

<220>

<223> Description of Artificial Sequence:Primer

<400> 42

cagagactgg cttcctacan ga 22

<210> 43

<211> 23

<212> DNA

<213> Artificial Sequence

<220>

<223> Description of Artificial Sequence:Primer

<400> 43

ccagagactg gcttcctaca nta 23

<210> 44

<211> 20

<212> DNA

<213> Artificial Sequence

<220>

<223> Description of Artificial Sequence:Primer

<400> 44

gcctggaaca catcctgtga 20

<210> 45

<211> 19

<212> DNA

<213> Artificial Sequence

<220>

<223> Description of Artificial Sequence:Primer

<400> 45

tttgatgggg ggaaaanac 19

<210> 46

<211> 18

<212> DNA

<213> Artificial Sequence

<220>

<223> Description of Artificial Sequence:Primer

<400> 46

ttgatggggg gaaaancc 18

<210> 47

<211> 20

<212> DNA

<213> Artificial Sequence

<220>

<223> Description of Artificial Sequence:Primer

<400> 47

cctcatatca atgtggccaa 20

<210> 48

<211> 23

<212> DNA

<213> Artificial Sequence

<220>

<223> Description of Artificial Sequence:Primer

<400> 48

ggcacagaga gagtctggac acg 23

<210> 49

<211> 19

<212> DNA

<213> Artificial Sequence

<220>

<223> Description of Artificial Sequence:Primer

<400> 49

ggccgcctcc gatgataca 19

<210> 50

<211> 16

<212> DNA

<213> Artificial Sequence

<220>

<223> Description of Artificial Sequence:Primer

<400> 50

cccagggtc ctgncg 16

<210> 51

<211> 17

<212> DNA

<213> Artificial Sequence

<220>

<223> Description of Artificial Sequence:Primer

<400> 51

ccccagggt cctgntg 17

<210> 52

<211> 21

<212> DNA

<213> Artificial Sequence

<220>

<223> Description of Artificial Sequence:Primer

<400> 52

tgagcttctc cagcttgggt g 21

<210> 53

<211> 24

<212> DNA

<213> Artificial Sequence

<220>

<223> Description of Artificial Sequence:Primer

<400> 53

acccaaatac atctcccagg ancg 24

<210> 54

<211> 24

<212> DNA

<213> Artificial Sequence

<220>

<223> Description of Artificial Sequence:Primer

<400> 54

aacccaaata catctcccag gnct 24

<210> 55

<211> 23

<212> DNA

<213> Artificial Sequence

<220>

<223> Description of Artificial Sequence:Primer

<400> 55

gaatgatatt gttgctgtgg gac 23

<210> 56

<211> 19

<212> DNA

<213> Artificial Sequence

<220>

<223> Description of Artificial Sequence:Primer

<400> 56

ccgatgacct gcagaancg 19

<210> 57

<211> 20

<212> DNA

<213> Artificial Sequence

<220>

<223> Description of Artificial Sequence:Primer

<400> 57

gccgatgacc tgcagaantg 20

<210> 58

<211> 19

<212> DNA

<213> Artificial Sequence

<220>

<223> Description of Artificial Sequence:Primer

<400> 58

cggcctggta cactgccag 19

<210> 59

<211> 19

<212> DNA

<213> Artificial Sequence

<220>

<223> Description of Artificial Sequence:Probe

<400> 59

agccactgat gcncggtct 19

<210> 60

<211> 19

<212> DNA

<213> Artificial Sequence

<220>

<223> Description of Artificial Sequence:Probe

<400> 60

agccactgat gcntggtct 19

<210> 61

<211> 25

<212> DNA

<213> Artificial Sequence

<220>

<223> Description of Artificial Sequence:Probe

<400> 61

gtacaggtga tgtantatct ctgtg 25

<210> 62

<211> 25

<212> DNA

<213> Artificial Sequence

<220>

<223> Description of Artificial Sequence:Probe

<400> 62

gtacaggtga tgtancatct ctgtg 25

<210> 63

<211> 20

<212> DNA

<213> Artificial Sequence

<220>

<223> Description of Artificial Sequence:Probe

<400> 63

tggacacgtg ggggagtcag 20

<210> 64

<211> 20

<212> DNA

<213> Artificial Sequence

<220>

<223> Description of Artificial Sequence:Probe

<400> 64

tggacacgtg gggagtcagc 20

【図面の簡単な説明】

【図 1】

図 1 は、実施例におけるスクリーニング関連解析において検討した112遺伝子多型をまとめた表である。

【図 2】

図 2 は、同じく実施例におけるスクリーニング関連解析において検討した112遺伝子多型をまとめた表である。

【図 3】

図 3 は、実施例において遺伝子型を決定するために使用されるプライマー（上から順に配列番号 30、31、32、21、22、23、15、16、17、24、25、26、18、19、20、33、34、35、42、43、44）、プローブ（上から順に配列番号 59、60）及びその他の条件をまとめた表である。図中、FITCはフルオレセインイソチオシアネートを、TxRはテキサスレッドをそれぞれ表す。

【図 4】

図 4 は、同じく実施例において遺伝子型を決定するために使用されるプライマー（上から順に配列番号 27、28、29、39、40、41、36、37、38、53、54、55、56、57、58、48、49、45、46、47、50、51、52）、プローブ（上から順に配列番号 61、62、63、64）及びその他の条件をまとめた表である。図中、FITCはフルオレセインイソチオシアネートを、TxRはテキサスレッドをそれぞれ表す。

【図 5】

図 5 は、実施例のスクリーニング関連解析における対象909例の背景をまとめた表である。年齢とBody mass indexのデータは平均±標準偏差で表される。表中、*1は $P=0.0278$ を、*2は $P<0.0001$ versus controlsをそれぞれ表す。

【図 6】

図 6 は、実施例のスクリーニング関連解析において心筋梗塞との関連が認められた遺伝子多型をまとめた表である。

【図 7】

図7は、実施例における関連解析の全対象5061例の背景をまとめた表である。年齢とBody mass indexのデータは平均±標準偏差で表される。表中、*1は $P=0.022$ を、*2は $P<0.001$ を、*3は $P=0.017$ をそれぞれ表す。

【図8】

図8は、実施例における関連解析の全対象5061例において心筋梗塞との関連が認められた遺伝子多型の遺伝子型分布をまとめた表である。

【図9】

図9は、実施例における関連解析の全対象5061例における遺伝子多型と心筋梗塞の多因子ロジスティック回帰分析の結果を示す表である。表中、ORはオッズ比を、CIは信頼区間をそれぞれ表す。

【図10】

図10は、心筋梗塞と関連のある遺伝子多型における多因子ロジスティック回帰分析のstepwise forward selection methodの結果を示す表である。表中、CIは信頼区間を表す。

【図11】

図11は、男性における5個の組合せ遺伝子多型を用いた心筋梗塞の遺伝的リスク（発症リスク）診断の結果を示す表である。

【図12】

図12は、女性における5個の組合せ遺伝子多型を用いた心筋梗塞の遺伝的リスク（発症リスク）診断の結果を示す表である。

【図13】

図13は、組み合わせる遺伝子多型の数と心筋梗塞罹患のオッズ比の関係を表すグラフである。尚、(A)が男性を対象とした場合、(B)が女性を対象とした場合である。

【書類名】

図面

【図 1】

遺伝子	多型	遺伝子	多型
アンギオテンシン変換酵素	I/D in intron 16	インスリン受容体サブストレート 1	3494G→A (Gly972Arg)
アンギオテンシン II タイプ I 受容体	-535C→T	インターロイキン-10	-1082G→A
アンギオテンシノーゲン	-6G→A		-819T→C
アポリipoprotein A1	-75G→A		-592A→C
	83C→T	インターロイキン-1α	-889C→T
アポリipoprotein B	I/D in signal peptide	インターロイキン-1β	-511C→T
アポリipoprotein C-III	-482C→T		3953C→T
	1100C→T	インターロイキン-6	-634C→G
アポリipoprotein E	-491A→T		-174G→C
	-219G→T	LDL 受容体関連タンパク質	766C→T
	3932T→C (Cys112Arg)	レプチン	-1887C→A
	4070C→T (Arg158Cys)	リポ蛋白リニンリパーゼ	280G→A (Asp9Asn)
アポリipoprotein(a)	93C→T	マンガンスーパーオキシドジスムターゼ	1127A→G (Asn291Ser)
	121G→A		47C→T (Ala16Val)
ATP 結合カセットトランスポーター-1	11764A→C (Thr12Pro)	マトリックス Gla タンパク質	173T→C (Ile58Thr)
	-477C→T		-7G→A
心房性ナトリウム利尿ペプチド (ANP)	1051G→A (Arg219Lys)	メタプロテナーゼ-1 (コラゲナーゼ)	7158A→G (Thr83Ala)
ANP クリアランス受容体	664G→A (Val7Met)	メタプロテナーゼ-12	-1607G→GG
	-55A→C	(マクロファージ エラスターゼ)	-82A→G
β2-アドレナリン受容体	46A→G (Arg16Gly)	メチオニンシンターゼ	2756A→G (Asp919Gly)
	79C→G (Gln27Glu)	メチレンテトラヒドロ葉酸リダクターゼ	677C→T (Ala222Val)
	491C→T (Thr164Ile)	単球ケモカイン誘引タンパク (MCP) 1	-2518G→A
β3-アドレナリン受容体	190T→C (Trp64Arg)	NADH/NADPH オキシダーゼ p22 フォックス	242C→T (His72Tyr)
β-フィブリンノーゲン	-854G→A	ニューロペプチド Y	1128T→C (Leu7Pro)
	-455G→A	パラオキシソナーゼ	-107T→C
	148C→T		172A→T (Met55Leu)
	8059G→A (Arg448Lys)		584G→A (Gln192Arg)
CD14 受容体	-260C→T	PECAM1 (CD31)	1454C→G (Leu125Val)

【図 2】

ケモカイン受容体 2	190G→A (Val64Ile)	PECAM1 (CD31)	4428G→A (Ser563Asn)
コレステロールエステル輸送タンパク	1061A→G (Ile405Val)	ペルオキシソーム増殖剤応答性受容体-α	696C→G (Leu162Val)
	1163A→G (Asp442Gly)	ペルオキシソーム増殖剤応答性受容体-γ2	34C→G (Pro12Ala)
凝固因子 V	1200G→A (Arg451Gln)	プラスミノーゲン活性化因子インヒビター1-668/4G→5G	344C→A (Pro115Gln)
凝固因子 VII	1691G→A (Arg506Gln)	血小板活性化因子アセチルヒドロール-ε	994G→T (Val279Phe)
凝固因子 XII	11496G→A (Arg553Glu)	プロトロンビン	20210G→A
凝固因子 XIII A-サブユニット	46C→T	P-セレクチン	76666A→C (Thr715Pro)
コネキシン 37	163G→T (Val34Leu)	スカベンジャー受容体-BI	4G→A (Gly2Ser)
一酸化窒素合成酵素	1019C→T (Pro319Ser)		403G→A (Val135Ile)
	-786T→C	セロトニン 2A 受容体 r	102T→C
エンドセリン-1	894G→T (Glu298Asp)	ストロメライシン-1	-1171/5A→6A
E-セレクチン	5665G→T (Lys198Asn)	トロノボモジュリン	-33G→A
	98G→T		-10GG→TA
細胞外スーパーオキシドジスムターゼ	561A→C (Ser128Arg)		845G→A (Ala25Thr)
脂脂肪酸結合タンパク 2	1839C→T (Leu554Phe)		2136C→T (Ala455Val)
フラクタルカイン受容体	5775C→G (Arg213Gly)	トロノボイエチン	5713A→G
グリコプロテイン Ia	2445G→A (Ala54Thr)	トロノボスポンジン 1	2210A→G (Asn700Ser)
	84635G→A (Val249Ile)	トロノボスポンジン 4	1186G→C (Ala387Pro)
	807C→T	外因系凝固 (組織因子) インヒビター	874G→A (Val264Met)
	873G→A	トランスフォーミング増殖因子-β1	-509C→T
グリコプロテイン Ibα	1648A→G (Lys505Glu)	腫瘍壊死因子-α	869T→C (Leu10Pro)
グリコプロテイン IIIa	1018C→T (Thr145Met)		-863C→A
グリコプロテイン PC-1	1565T→C (Leu33Pro)		-850C→T
G-タンパク質 β3 サブユニット	97A→C (Lys121Gln)		-308G→A
ヘモクロマトーシス関連タンパク質	825C→T (splice variant)		-238G→A
肝性リパーゼ	845G→A (Cys282Tyr)	フォンビルブランド因子	-1234C→T
	-480C→T		-1051G→A
	-250G→A		

【図 3】

遺伝子	一塩基多型	標識	プライマー	回数	プローブ	ホルミアミド
アニリング温度 55-67.5°C; Mg, 1-4 mM						
血小板活性化因子 アセチルヒドロラーゼ	994G→T	FITC	TTCTTTTGGTGGAGCAACNGT	40		
		TxR	ATTCTTTTGGTGGAGCAACNIT			
		biotin	TCTTACCCTGAATCTCTGATCTTCA			
NADH/NADPH オシダーゼ p22 フォックス	242C→T	FITC	ACCACGGCGGTCATGNQC	40		
		TxR	ACCACGGCGGTCATGNAC			
		biotin	GCAGCAAAGGAGTCCCGAGT			
コネキシン 37	1019C→T	TxR	CTCAGAATGGCCAAAANCC	35		
		FITC	CCTCAGAATGGCCAAAANIC			
		biotin	GCAGAGCTGCTGGGACGA			
アンギオテンシンノーゲン	-6G→A	TxR	CGGCAGCTTCTTCCCNCG	35		
		FITC	CGGCAGCTTCTTCCCNIG			
		biotin	CCACCCCTCAGCTATAAATAGG			
腫瘍壊死因子-α	-863C→A	TxR	GGCCCTGTCTTCGTTAANGG	35		
		FITC	ATGGCCCTGTCTTCGTTAANTIG			
		biotin	CCAGGGCTATGGAAGTCGAGTATC			
アポリipoprotein C-III	-482C→T		CGGAGCCACTGATGCNCG	35	AGCCACTGATGCNCGGTCT	30%
			CGGAGCCACTGATGCNIG		AGCCACTGATGCNIGGTCT	
			TGTTTGGAGTAAAGGCACAGAA			
インターロイキン-10	-592A→C	biotin	CAGAGACTGGCTTCCTACANGA	35		
		FITC	CCAGAGACTGGCTTCCTACANTIA			
		TxR	GCCTGGAAACACATCTCTGTGA			

【図 4】

アポリポプロテイン E	-219G→T	FTTC	GAATGGAGGAGGGTGTCTNGA	35	
		TxR	AGAATGGAGGAGGGTGTCTNTA		
		biotin	CCAGGAAGGAGGACACCTC		
インターロイキン-10	-819T→C		TACCCCTTGACAGGTGATGTANTTA		GTACAGGTGATGTANTATCTCTGTG
			TACCCCTTGACAGGTGATGTANCA	35	GTACAGGTGATGTANCACTCTCTGTG
		biotin	ATAGTGAGCAAACTGAGGCACA		
トロンスポジン 4	1186G→C	TxR	CGAGTTGGGAACGCACNCT	35	
		FTTC	CGAGTTGGGAACGCACNGT		
		biotin	GGTCTGCACTGACATTGATGAG		
パラオキソナーゼ	584G→A	FTTC	ACCCAAATACATCTCCAGGANC	35	
		TxR	AACCCAAATACATCTCCAGGNC		
		biotin	GAATGATATTGTTGCTGTGGGAC		
アポリポプロテイン E	4070C→T	FTTC	CCGATGACCTGCAGAAACG	40	
		TxR	GCCGATGACCTGCAGAAATG		
		biotin	CGGCCTGTACACTGCCAG		
プラスミノーザン	-668/4G→5G		GGCACAGAGAGAGTCTGGACACG		TGGACACGTGGGGGAGTCAG
		biotin	GGCGGCTCCGATGATACA	35	TGGACACGTGGGGGAGTCAGC
		FTTC	TTTGATGGGGGAAAAANAC		
活性化因子インヒビター-1	-1171/5A→6A	TxR	TTGATGGGGGAAAAANCC	40	
		biotin	CCTCATATCAATGTGGCCAA		
		FTTC	CCCAGGGCTCCTGNCG		
グリコプロテイン Iba	1018C→T	TxR	CCCCAGGGCTCCTGNTG	40	
		biotin	TGAGCTTCTCCAGCTTGGGTG		

【図 5】

	男性 (n = 451)		女性 (n = 458)	
	対照 (n = 232)	心筋梗塞症例 (n = 219)	対照 (n = 232)	心筋梗塞症例 (n = 226)
年齢 (years)	52.4 ± 3.6	51.8 ± 6.0	62.6 ± 8.8	62.2 ± 8.3
Body mass index (kg/m ²)	23.8 ± 2.5	24.2 ± 2.7	23.4 ± 3.2	23.2 ± 2.9
喫煙 (%)	60.3	60.7	9.5	16.5*1
高血圧 (%)	43.5	42.9	69.8	65.5
糖尿病 (%)	11.2	16.0	15.5	36.7*2
高コレステロール血症 (%)	45.3	52.5	59.9	66.8
高尿酸血症 (%)	16.4	21.0	10.3	11.9

【図 6】

遺伝子	多型	遺伝子	多型	遺伝モデル	P
男性					
血小板活性化因子αセチルヒドロラーゼ	994G→T	パラオキソナーゼ	584G→A	優性	0.009
NADH/NADPHオキシダーゼp22フォックス	242C→T	インターロイキン-6	-634C→G	付加	0.009
コネキシン 37	1019C→T	コネキシン37	1019C→T	優性	0.013
トロンプスポンジン 4	1186G→C	ATP-結合カセットトランスポーター-1	1051G→A	付加	0.014
アンギオテンシンノーゲン	-6G→A	腫瘍壊死因子-α	-850C→T	付加	0.015
腫瘍壊死因子-α	-863C→A	エンドセリン-1	5665G→T	劣性	0.028
トランスフォーミング増殖因子-β1	869T→C	アポリポプロテインE	4070C→T	劣性	0.038
G-タンパク質 β3サブユニット	825C→T	アポリポプロテインC-III	-482C→T	劣性	0.044
アポリポプロテインC-III	-482C→T	アポリポプロテインE	3932T→C	優性	0.047
インターロイキン-10	-819T→C	CD14受容体	-260C→T	付加	0.050
トロンプモジュリン	2136C→T	腫瘍壊死因子-α	-238G→A	優性	0.052
アンギオテンシンノーゲン	4070C→T	プラスミノーゲン活性化因子	-668/4G→5G	劣性	0.055
グリコプロテインIa	A1648→G	インヒビター-1	2445G→A	付加	0.057
インターロイキン-10	-592A→C	脂肪酸結合タンパク質2	3494G→A	優性	0.058
アポリポプロテインE	-219G→T	インスリン受容体サブストレート-1	-1171/5A→6A	付加	0.072
トロンプボイエチン	5713A→G	ストロメラインシン-1	1018C→T	付加	0.072
アポリポプロテインC-III	1100C→T	グリコプロテインIbα	A561→C	優性	0.074
ケモカイン受容体2	190G→A	E-セクレチン	-786T→C	優性	0.087
一酸化窒素合成酵素	-786T→C	一酸化窒素合成酵素			
女性					
血小板活性化因子αセチルヒドロラーゼ	994G→T	パラオキソナーゼ	584G→A	優性	0.009
NADH/NADPHオキシダーゼp22フォックス	242C→T	インターロイキン-6	-634C→G	付加	0.009
コネキシン 37	1019C→T	コネキシン37	1019C→T	優性	0.013
トロンプスポンジン 4	1186G→C	ATP-結合カセットトランスポーター-1	1051G→A	付加	0.014
アンギオテンシンノーゲン	-6G→A	腫瘍壊死因子-α	-850C→T	付加	0.015
腫瘍壊死因子-α	-863C→A	エンドセリン-1	5665G→T	劣性	0.028
トランスフォーミング増殖因子-β1	869T→C	アポリポプロテインE	4070C→T	劣性	0.038
G-タンパク質 β3サブユニット	825C→T	アポリポプロテインC-III	-482C→T	劣性	0.044
アポリポプロテインC-III	-482C→T	アポリポプロテインE	3932T→C	優性	0.047
インターロイキン-10	-819T→C	CD14受容体	-260C→T	付加	0.050
トロンプモジュリン	2136C→T	腫瘍壊死因子-α	-238G→A	優性	0.052
アンギオテンシンノーゲン	4070C→T	プラスミノーゲン活性化因子	-668/4G→5G	劣性	0.055
グリコプロテインIa	A1648→G	インヒビター-1	2445G→A	付加	0.057
インターロイキン-10	-592A→C	脂肪酸結合タンパク質2	3494G→A	優性	0.058
アポリポプロテインE	-219G→T	インスリン受容体サブストレート-1	-1171/5A→6A	付加	0.072
トロンプボイエチン	5713A→G	ストロメラインシン-1	1018C→T	付加	0.072
アポリポプロテインC-III	1100C→T	グリコプロテインIbα	A561→C	優性	0.074
ケモカイン受容体2	190G→A	E-セクレチン	-786T→C	優性	0.087
一酸化窒素合成酵素	-786T→C	一酸化窒素合成酵素			

【図 7】

	男性 (n = 3309)		女性 (n = 1752)	
	対照 (n = 1306)	心筋梗塞症例 (n = 2003)	対照 (n = 936)	心筋梗塞症例 (n = 816)
年齢(years)	60.1 ± 9.6	60.8 ± 10.3	60.8 ± 11.2	60.5 ± 10.6
Body mass index (kg/m ²)	23.6 ± 2.6	23.6 ± 2.9	23.0 ± 3.3	23.4 ± 3.5*1
喫煙 (%)	57.6	58.2	9.5	15.5*2.
高血圧 (%)	53.6	45.0*2	59.4	55.9
糖尿病 (%)	15.4	32.4*2	16.5	42.1*1
高コレステロール血症 (%)	35.4	43.7*2	51.2	56.8*3
高尿酸血症 (%)	17.2	14.2*3	9.7	13.2*1

【図 8】

遺伝子	多型	遺伝子型分布 (%)				心筋梗塞症例	
		対照					
男性 (n = 3309)							
コネキシン37	1019C→T	CC, 72.5	CT, 22.7	TT, 4.9	CC, 66.3	CT, 28.8	TT, 4.9
腫瘍壊死因子-α	-863C→A	CC, 70.9	CA, 20.7	AA, 8.5	CC, 75.5	CA, 17.9	AA, 6.6
NADH/NADPHオキシダーゼp22フォックス	242C→T	CC, 74.8	CT, 24.2	TT, 1.0	CC, 79.7	CT, 19.0	TT, 1.3
アンギオテンシンノーゲン	-6G→A	GG, 2.6	GA, 29.6	AA, 67.8	GG, 4.3	GA, 33.4	AA, 62.3
アポリipoproteinE	-219G→T	GG, 8.4	GT, 42.7	TT, 48.9	GG, 7.2	GT, 39.2	TT, 53.6
血小板活性化因子αセチルヒドロラーゼ	994G→T	GG, 71.2	GT, 26.3	TT, 2.5	GG, 68.1	GT, 29.2	TT, 2.6
アポリipoproteinC-III	-482C→T	CC, 28.1	CT, 48.4	TT, 23.5	CC, 27.5	CT, 51.2	TT, 21.3
トロンプスポンジン4	1186G→C	GG, 88.1	GC, 11.8	CC, 0.1	GG, 85.4	GC, 14.0	CC, 0.5
インターロイキン-10	-819T→C	TT, 47.2	TC, 42.4	CC, 10.4	TT, 47.2	TC, 39.6	CC, 13.1
インターロイキン-10	-592A→C	AA, 47.5	AC, 41.8	CC, 10.6	AA, 46.2	AC, 40.4	CC, 13.4
女性 (n = 1752)							
ストロメライン-1	-1171/5A→6A	5A/5A, 1.2	5A/6A, 47.1	6A/6A, 51.7	5A/5A, 1.8	5A/6A, 37.9	6A/6A, 60.2
プラスミノーゲン活性化因子インヒビター-1	-668/4G→5G	4G/4G, 43.8	4G/5G, 44.2	5G/5G, 12.0	4G/4G, 37.3	4G/5G, 49.6	5G/5G, 13.1
グリコipoproteinIbα	1018C→T	CC, 76.7	CT, 20.8	TT, 2.5	CC, 77.7	CT, 21.6	TT, 0.7
パラオキシナーゼ	584G→A	GG, 44.7	GA, 45.0	AA, 10.3	GG, 44.6	GA, 41.7	AA, 13.6
アポリipoproteinE	4070C→T	CC, 91.2	CT, 8.7	TT, 0.1	CC, 91.8	CT, 7.2	TT, 1.0

【図 9】

遺伝子	多型	優性		劣性		付加	
		P	OR (95% CI)	P	OR (95% CI)	P	OR (95% CI)
男性 (n = 3309)							
コネキシン37	1019C→T	0.0001	1.4 (1.2-1.7)	0.7834		<0.0001	1.5 (1.2-1.7)
腫瘍壊死因子-α	-863C→A	0.0020	0.7 (0.6-0.9)	0.0235	0.7 (0.5-1.0)	0.0105	0.7 (0.5-0.9)
NADH/NADPHオキシダーゼp22フォックス	242C→T	0.0027	0.7 (0.6-0.9)	0.9462		0.0021	0.7 (0.6-0.9)
アンギオテンシンノーゲン	-6G→A	0.0563		0.0038	0.8 (0.7-0.9)	0.0283	0.6 (0.4-0.9)
アポリipoprotein E	-219G→T	0.4015		0.0085	1.2 (1.1-1.4)	0.1557	
血小板活性化因子アセチルヒドロラーゼ	994G→T	0.0349	1.2 (1.0-1.4)	0.6522		0.0227	1.2 (1.0-1.4)
アポリipoprotein C-III	-482C→T	0.6297		0.0367	0.8 (0.7-1.0)	0.2716	
トロンボスポンジン4	1186G→C	0.0373	1.3 (1.0-1.6)	0.0834		0.0700	
インターロイキン-10	-819T→C	0.9108		0.0375	1.3 (1.0-1.6)	0.0738	
インターロイキン-10	-592A→C	0.2692		0.0427	1.3 (1.0-1.6)	0.0394	1.3 (1.0-1.7)
女性 (n = 1752)							
ストロメライン-1	-1171/5A→6A	<0.0001	2.1 (1.6-2.8)	0.0002	1.5 (1.2-1.9)	<0.0001	2.2 (1.6-2.9)
プラスミノーゲン活性化因子インヒビター-1	-668/4G→5G	0.0008	1.5 (1.2-1.8)	0.4495		0.0010	1.5 (1.2-1.9)
グリコipoprotein Iba	1018C→T	0.6065		0.0238	0.3 (0.1-0.8)	0.0242	0.3 (0.1-0.8)
パラオキシナーゼ	584G→A	0.3966		0.0349	1.4 (1.0-2.0)	0.1017	
アポリipoprotein E	4070C→T	0.6881		0.0399	9.7 (1.6-185.6)	0.0418	9.5 (1.6-181.7)

【図 10】

遺伝子	遺伝子座	多型	遺伝モデル	P	オッズ比	95% CI
男性						
コネキシン37	1p35.1	1019C→T	TT + CT versus CC	0.0124	1.31	1.06-1.61
腫瘍壊死因子-α	6p21.3	-863C→A	AA + CA versus CC	0.0336	0.79	0.64-0.98
NADH/NADPHオキシダーゼp22フォックス	16q24	242C→T	TT + CT versus CC	0.2926	0.88	0.70-1.11
アンギオテンシンノーゲン	1q42-q43	-6G→A	AA versus GA + GG	0.0251	0.79	0.65-0.97
アポリポプロテインE	19q13.2	-219G→T	TT versus GT + GG	0.0209	1.26	1.03-1.51
血小板活性化因子アセチルヒドロラーゼ	6p21.2-p12	994G→T	TT + GT versus GG	0.0155	1.30	1.05-1.59
アポリポプロテインC-III	11q23	-482C→T	TT versus CT + CC	0.0606	0.80	0.64-1.01
トロンスボスポンジン4	5q13	1186G→C	CC + GC versus GG	0.0011	1.64	1.22-2.21
インターロイキン-10	1q31-q32	-819T→C	CC versus CT + TT	0.5643	1.20	0.65-2.17
インターロイキン-10	1q31-q32	-592A→C	CC versus CA + AA	0.6323	1.16	0.63-2.12
女性						
ストロメライン-1	11q23	-1171/5A→6A	6A/6A + 5A/6A versus 5A/5A	<0.0001	1.87	1.42-2.47
プラスミノーゲン活性化因子インヒビター-1	7q21.3-q22	-668/4G→5G	5G/5G + 4G/5G versus 4G/4G	0.0005	1.50	1.19-1.89
グリコプロテインIIa	22q11.2	1018C→T	TT versus CT + CC	0.0308	0.28	0.09-0.89
パラオキシナーゼ	7q21.3	584G→A	AA versus GA + GG	0.1889	1.27	0.89-1.81
アポリポプロテインE	19q13.2	4070C→T	TT versus CT + CC	0.0872	6.96	0.75-64.36

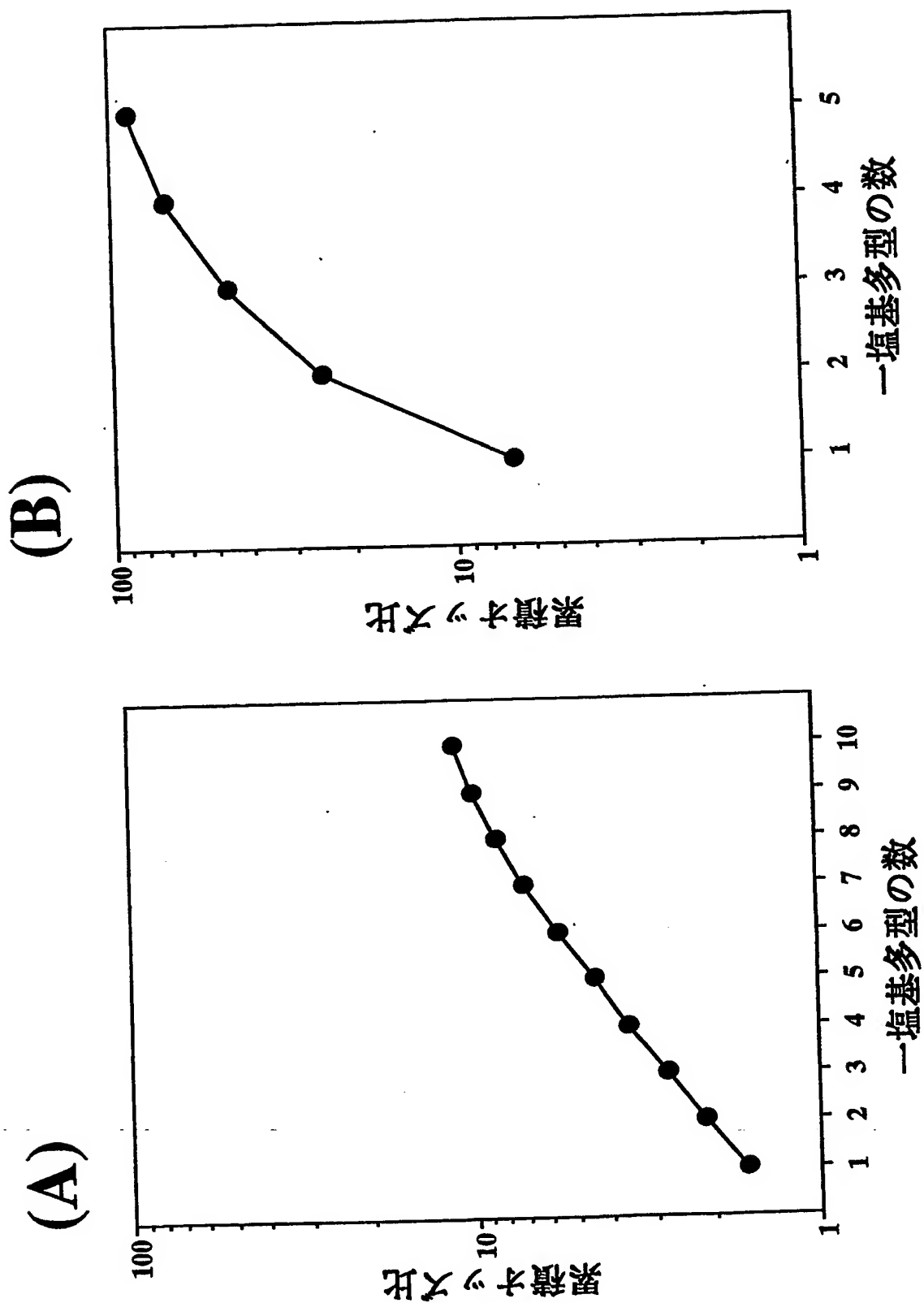
【図11】

トロンボスポンジン4 (0=GG, 1=GC=CC)	コネキシシン37 (0=CC, 1=CT=TT)	PAFアセチルヒドロラーゼ (0=GG, 1=GT=TT)	アンギオテンシンノーゲン (0=GA=GG, 1=AA)	腫瘍壊死因子-α (0=CC, 1=CA=AA)	オッズ 比
1	1	1	0	0	4.50
1	1	1	0	1	3.55
1	1	1	1	0	3.55
1	1	1	1	1	2.79
1	1	1	1	0	3.47
1	1	0	0	1	2.73
1	1	0	0	0	2.73
1	1	0	1	1	2.15
1	1	0	1	0	3.44
1	0	1	0	1	2.71
1	0	1	0	0	2.71
1	0	1	1	1	2.13
1	0	1	0	0	2.65
1	0	0	0	1	2.08
1	0	0	1	0	2.08
1	0	0	1	1	1.64
1	0	0	1	0	2.75
0	1	1	0	1	2.16
0	1	1	0	0	2.16
0	1	1	1	1	1.70
0	1	1	0	0	2.11
0	1	0	0	1	1.66
0	1	0	1	0	1.66
0	1	0	1	1	1.31
0	1	0	0	0	2.10
0	0	1	0	1	1.65
0	0	1	1	0	1.65
0	0	1	1	1	1.30
0	0	0	0	0	1.61
0	0	0	0	1	1.27
0	0	0	1	0	1.27
0	0	0	1	1	1.00

【図 12】

アポリipoprotein E (0 = CC = CT, 1 = TT)	グリコipoprotein IIa (0 = CC = CT, 1 = TT)	ストロメライシン-1 (0 = 5A/5A, 1 = 5A/6A = 6A/6A)	アラミノ-糖'活性化因子'ビ'ター-1 (0 = 4G/4G, 1 = 4G/5G = 5G/5G)	パラオキソナーゼ (0 = GG = GA, 1 = AA)	オッズ 比
1	0	1	1	1	88.51
1	0	1	1	0	69.70
1	0	1	0	1	59.01
1	0	1	0	0	46.46
1	0	1	1	1	47.33
1	0	0	1	0	37.27
1	0	0	1	1	31.56
1	0	0	0	0	24.85
1	0	0	0	1	24.79
1	1	1	1	0	19.52
1	1	1	1	1	16.53
1	1	1	0	0	13.02
1	1	1	0	1	13.26
1	1	0	1	1	10.44
1	1	0	1	0	8.84
1	1	0	0	1	6.96
1	1	0	0	0	12.72
1	1	1	1	1	10.01
0	0	1	1	0	8.48
0	0	1	0	1	6.68
0	0	1	0	0	6.80
0	0	1	1	1	5.36
0	0	0	1	0	4.53
0	0	0	0	1	3.57
0	0	0	0	0	3.56
0	0	1	1	1	2.81
0	1	1	1	0	2.37
0	1	1	0	1	1.87
0	1	1	0	0	1.91
0	1	0	1	1	1.50
0	1	0	1	0	1.27
0	1	0	0	1	1.00
0	1	0	0	0	

【図13】



【書類名】 要約書

【要約】

【課題】 高精度で予知確率の高い心筋梗塞のリスクを診断する手段を提供する

【解決手段】 以下の工程を含んでなる方法により心筋梗塞のリスク診断を行う

(i)心筋梗塞との関連が認められた10個の遺伝子多型、又は5個の遺伝子多型から二つ以上の多型を解析する工程、

(ii)前記工程によって得られる多型情報から核酸試料の遺伝子型を決定する工程、及び

(iii)決定された遺伝子型から心筋梗塞の遺伝的リスクを求める工程。

【選択図】 図10

認定・付加情報

特許出願の番号	特願2002-181580
受付番号	50200908957
書類名	特許願
担当官	宇留間 久雄
作成日	平成14年 6月25日

<認定情報・付加情報>
【提出日】

平成14年 6月21日

出願人履歴情報

識別番号 [598091860]

1. 変更年月日 1998年 7月 9日
[変更理由] 新規登録
住 所 愛知県名古屋市中区栄二丁目10番19号
氏 名 財団法人名古屋産業科学研究所

出 願 人 履 歴 情 報

識別番号 [500572649]

1. 変更年月日	2000年12月14日
[変更理由]	新規登録
住 所	岐阜県可児郡御嵩町御嵩字南山2193番地の128
氏 名	財団法人岐阜県国際バイオ研究所

**This Page is Inserted by IFW Indexing and Scanning
Operations and is not part of the Official Record**

BEST AVAILABLE IMAGES

Defective images within this document are accurate representations of the original documents submitted by the applicant.

Defects in the images include but are not limited to the items checked:

☐ **BLACK BORDERS**

☐ **IMAGE CUT OFF AT TOP, BOTTOM OR SIDES**

☐ **FADED TEXT OR DRAWING**

☒ **BLURRED OR ILLEGIBLE TEXT OR DRAWING**

☐ **SKEWED/SLANTED IMAGES**

☐ **COLOR OR BLACK AND WHITE PHOTOGRAPHS**

☐ **GRAY SCALE DOCUMENTS**

☒ **LINES OR MARKS ON ORIGINAL DOCUMENT**

☐ **REFERENCE(S) OR EXHIBIT(S) SUBMITTED ARE POOR QUALITY**

☐ **OTHER:** _____

IMAGES ARE BEST AVAILABLE COPY.

As rescanning these documents will not correct the image problems checked, please do not report these problems to the IFW Image Problem Mailbox.